Postverlagsort Berlin

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

UNTER MITWIRKUNG DER FACHGRUPPE ANALYTISCHE CHEMIE
DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER
VERTRETEN DURCH
H. KIENITZ W. KOCH H. LUTHER H. SPECKER

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

167. BAND, 2. HEFT
MIT 14 ABBILDUNGEN IM TEXT
(ABGESCHLOSSEN AM 30. APRIL 1959)

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J.F. BERGMANN · MÜNCHEN
1959

Z. analyt. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel, und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901
Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 440535

Band 167 **Inhaltsverzeichnis** Heft 2

Originalabhandlungen Seite

Nestler, C. G., und M. Nobis, Die Anwendung der photometrischen Vanadiumbestimmung mit Brenzcatechin in der Mikroanalyse. Mit 3 Textabbildungen 81

Heller, K., und U. Wagner, Quantitative Ultrarotspektralanalyse fester organischer Verbindungen. Mit 2 Textabbildungen 90

Ziegler, M., H. Sbrzesny und O. Glemser, Die Trennung des Silbers von Blei durch Extraktion als Silberisopropenylacetylid 96

Abd el Raheem, A. A., Omega Chrome Fast Blue 2G: A New Metal Indicator for EDTA Titrations 98

Hahn, F. L., Wägebüretten. Mit 1 Textabbildung 104

Datta, S. K., Analytical Aspects of some Azo Dyes from Chromotropic Acid. Part VI. Analytical Reactions of some 'SNADNS' Dyes 105

Specker, H., und M. Cremer, Über Eisen(III)-verbindungen in chloridhaltigen Verteilungssystemen. Mit 2 Textabbildungen 110

Lassner, E., und R. Scharf, Zur komplexometrischen Titration von Molybdän. 1. Mitteilung 114

Stengel, E., und G. Riemer, Beitrag zur photometrischen Endpunktsbestimmung bei der komplexometrischen Titration des Calciums und des Magnesiums. Mit 2 Textabbildungen 118

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem Forschungslaboratorium für metallkundliche Elektronenmikroskopie, Karl-Marx-Stadt

Die Anwendung der photometrischen Vanadiumbestimmung mit Brenzcatechin in der Mikroanalyse

Von
C. G. Nestler und M. Nobis

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 8. September 1958)

Vanadate geben nach Reduktion zu vierwertigen Vanadylsalzen in schwach sauren Lösungen mit Brenzcatechin eine intensive Blaufärbung. Diese Farbreaktion, die von V. Patrovský[2] erstmalig zur Bestimmung von Vanadium in Gesteinen, Mineralen und Stahl verwendet worden ist, soll 8mal empfindlicher sein als die Vanadiumbestimmung mit Peroxyden, wodurch sie besonders vorteilhaft für Carbidanalysen eingesetzt werden kann. Die Störungen durch Eisen und Mangan, die mit Brenzcatechin Violett- bzw. Grünfärbungen ergeben, haben wir durch einen mikroanalytischen Trennungsgang beseitigt.

Experimenteller Teil

1. Einfluß der Lösungsmittel für Brenzcatechin

Wir haben 20%ige Brenzcatechinlösungen in Wasser, Aceton, Methanol, Äthanol und Gemischen von Wasser mit den anderen Mitteln untersucht und festgestellt, daß Wasser als Lösungsmittel die niedrigste Blindwertextinktion E_B* gibt. Die wäßrige Lösung von Brenzcatechin ist im Gegensatz zu den anderen Lösungen fast ungetrübt.

Mit Vanadiummengen von 10, 50 und 100 μg V liefert die Brenzcatechinlösung in Aceton die größten gemessenen Extinktionen $E_{H_2O}-E_B$, gleichzeitig aber auch die größten Schwankungen in den gemessenen Werten. Die Endlösungen zeigen ausnahmslos Trübungen bzw. Niederschläge.

* Im folgenden wird unter E_B die Messung der Blindwertextinktion gegen Wasser verstanden, während unter E_{H_2O} die Messung der blauen Farbreaktion gegen Wasser aufgeführt ist. Deswegen ergibt sich beim Messen gegen Blindwert eine Extinktion, die nachfolgend mit $E_{H_2O}-E_B$ bezeichnet wird.

2. Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration der Endlösung auf die Farbintensität

Zur Prüfung des Einflusses der Wasserstoffionenkonzentration versetzten wir die neutrale Eichlösung von 50 μg V/50 ml portionsweise mit 1—12 ml 2 n Schwefelsäure und 1—50 ml 2 n Natronlauge.

Die in Abb. 1 festgehaltenen Extinktionen E_{H_2O} zeigen, daß im Bereich um den Nullwert kleinere Mengen Schwefelsäure bzw. Natronlauge durch das vorhandene Ammoniumacetat (vgl. S. 83) abgepuffert werden, daß sich jedoch bei größeren Aciditätsunterschieden Extinktionsdifferenzen von 300%, bezogen auf den niedrigsten Extinktionswert bei 12 ml 2 n Schwefelsäure egeben.

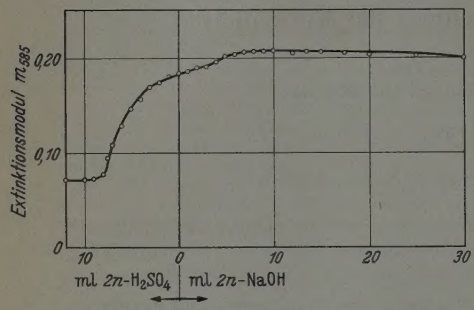


Abb. 1. Abhängigkeit der Farbausbildung von der Wasserstoffionenkonzentration, die durch Milliliter Säure bzw. Lauge ausgedrückt wird

Die Säure- oder Laugenmenge, die der Lösung zugesetzt wird, verändert also die Extinktionswerte der Farblösung erheblich. Um definierte Verhältnisse zu schaffen, ist es zweckmäßig, die Lösung zunächst gegen einen passenden Indicator zu neutralisieren. Wir haben p-Nitrophenol als Indicator gewählt, weil es im p_H-Bereich 7—5 von Gelb nach Farblos umschlägt und selbst bei Zugabe von 20 Tropfen einer 0,01%igen wäßrigen Lösung die Farbreaktion nicht stört. In der neutralisierten Lösung ergeben sich bei der Vanadiumbestimmung keine in Betracht kommenden Schwankungen der Extinktionswerte. Liegen vor dem Neutralisieren bis zu 15 ml 2 n Schwefelsäure bzw. 10 ml 2 n Natronlauge vor, so ist das auf die Extinktion $E_{H_2O}-E_B$ nur von vernachlässigbar kleinem Einfluß.

3. Einfluß der Mengen von Ammoniumsulfit, Brenzcatechin und Ammoniumacetat auf die Ausbildung des Farbkomplexes

Zur Feststellung des Einflusses der Ammoniumsulfitmenge wurden 50 μg Vanadium in einem 50 ml-Meßkolben vorgelegt und mit

x ml kaltgesättigter Ammoniumsulfitlösung,
5 ml 20%iger wäßriger Brenzcatechinlösung und
5 ml 50%iger wäßriger Ammoniumacetatlösung

versetzt. Innerhalb der variierten Menge von 1—10 ml Ammoniumsulfitlösung waren sowohl die Blindwertextinktionen als auch die Extinktionen $E_{H_2O}-E_B$ konstant.

Bei Ammoniumsulfitabwesenheit wurden geringere Extinktionen festgestellt. Im folgenden wurden stets 5 ml Ammoniumsulfitlösung zugegeben.

Zur Untersuchung des Einflusses der Brenzcatechinmenge wurden Versuche bei 10, 50 und 150 μg V/50 ml mit verschiedenen Brenzcatechinmengen durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abb. 2 graphisch dargestellt.

Man erkennt, daß mit steigender Vanadiumkonzentration auch die Brenzcatechinmenge gesteigert werden muß, um eine optimale Extinktion zu erzielen, daß jedoch bei Brenzcatechinüberschuß keine Beeinflussung der Farbreaktion auftritt.

Der Einfluß der Ammoniumacetatmenge wurde geprüft, indem wir in einem 50 ml-Meßkolben 50 μg Vanadium vorlegten und mit

- 5 ml kaltgesättigter Ammoniumsulfitlösung,
- 5 ml 20%iger wäßriger Brenzcatechinlösung und
- x ml 50%iger wäßriger Ammoniumacetatlösung

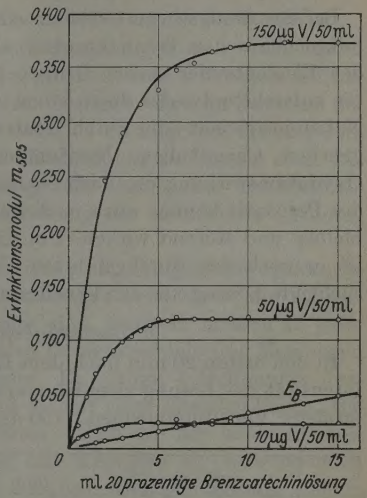


Abb. 2. Das Verhalten der Extinktion bei Variation der Brenzcatechinmenge in Abhängigkeit von der Vanadiumkonzentration

versetzten. Es ergab sich, daß mit steigender Ammoniumacetatmenge die Blindwertextinktionen sanken, jedoch die Extinktion $E_{H_2O} - E_B$ innerhalb der variierten Menge von 1—10 ml Ammoniumacetatlösung annähernd konstant blieb.

Aus den Ergebnissen über die p_H-Wert-Abhängigkeit läßt sich folgern, daß 5 ml Ammoniumacetatlösung genügen, um Neutralisationsfehler auszuschalten, also wurde im folgenden mit 5 ml Ammoniumacetatlösung gearbeitet.

4. Einfluß der Reihenfolge der Reagenszugabe auf die Ausbildung des Farbkomplexes

Zu 50 μg Vanadium wurden

a) 5 ml kaltgesättigte Ammoniumsulfitlösung,
b) 5 ml 20%ige wäßrige Brenzcatechinlösung und
c) 5 ml 50%ige wäßrige Ammoniumacetatlösung

zugegeben. In bezug auf die Reihenfolge der Zusätze gibt es sechs Variationsmöglichkeiten. Sie sind erprobt worden mit dem Ergebnis, daß die Reihenfolge Acetatlösung—Sulfitlösung—Brenzcatechinlösung den

anderen Möglichkeiten vorzuziehen ist. Sie ergibt die beste Übereinstimmung der Parallelversuche bei optimaler Extinktion E_{H_2O}. Diese Reihenfolge ist bei allen Versuchen eingehalten worden.

5. Einfluß von Natriumperoxyd auf die Ausbildung des Farbkomplexes

Bei der Analyse von Carbiden oder Stählen liegt, bedingt durch den mikrochemischen Trennungsgang, als Ausgangslösung zur Bestimmung der Elemente der ersten Gruppe immer eine alkalische Lösung vor. Sie entsteht entweder durch einen Aufschluß mit Natriumperoxyd und Natriumcarbonat oder durch Neutralisieren der sauren Lösung mit den gleichen Chemikalien. Natriumperoxyd beeinträchtigt durch seine Oxydationswirkung die Farbreaktion des Vanadiums sehr stark. Reste des Peroxyds können auch nach kurzem Erwärmen in der Lösung verbleiben und störend wirken. Um diese Störungen sicher zu vermeiden, ist es nach den durchgeführten Versuchen notwendig, die zu untersuchende Lösung vor der Vanadiumbestimmung 30 min lang zu kochen.

6. Beständigkeit der Farbintensität

In den ersten 20 min nach dem Reaktionsbeginn unterliegt die Farbintensität der Lösung ziemlich starken Schwankungen, besonders wenn größere Vanadiummengen (150 μg V/50 ml) vorliegen. Nach Ablauf dieser Zeit stellen sich aber Intensitätswerte ein, die mindestens im Zeitabschnitt 20—40 min unverändert bleiben. In diesem Zeitabschnitt werden also die photometrischen Messungen zweckmäßig durchgeführt.

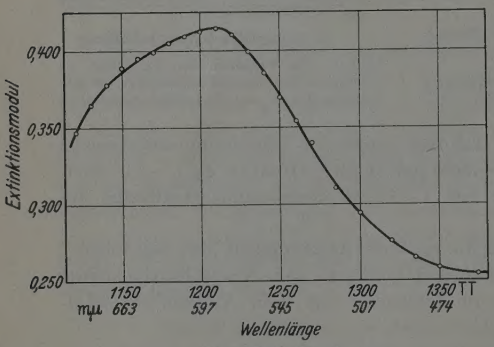


Abb. 3. Extinktionskurve

7. Extinktionskurve

Zur Aufnahme der Extinktionskurve diente der Spiegelmonochromator des VEB Carl Zeiss, Jena. Die Messungen erfolgten an einer Lösung mit 150 μg V/50 ml im Bereich von 1120—1375 TT*.

Abb. 3 zeigt, daß das Absorptionsmaximum des blauen Farbkomplexes bei 1210 TT $\triangleq$ 585 mμ liegt. Aus Versuchen, die mit kleineren Vanadiumkonzentrationen durchgeführt wurden, ergab sich, daß die Maxima mit der Konzentration um weniges verschoben werden.

* TT = Trommelteilung, siehe hierzu Druckschrift CZ 32-320a-1 des VEB Carl Zeiss, Jena.

Die Form der Extinktionskurve ist ebenfalls konzentrationsabhängig, und bei Vanadiumkonzentrationen unter 50 μg kann kein ausgeprägtes Maximum mehr festgestellt werden, vielmehr erhält man einen breiten Bereich gleichgroßer Extinktionen.

8. Anwendung von Eichlösungen zur Auswertung der Farbreaktion

Die Erfahrung lehrt, daß Brenzcatechinlösungen in verschlossenen Gefäßen, die im Dunkeln aufbewahrt werden, wohl 6 Wochen haltbar sind, doch verändern sich Brenzcatechinlösungen schon im Zeitraum der Aufstellung der in der Photometrie üblichen Eichkurven, die in jedem Bereich mit einer Vielzahl einzelner Eichlösungen zu belegen sind. Die Veränderung der Brenzcatechinlösung tritt durch eine Extinktionsänderung zutage, die auf eine Ausflockung der natürlichen Trübung dieser Lösungen zurückzuführen ist.

Aus diesem Grunde kann man nicht eine einmal aufgestellte Eichkurve zur Auswertung von Vanadiumbestimmungen verwenden, die zu verschiedenen Zeiten durchgeführt worden sind, vielmehr müssen zu jeder Analyse *gleichzeitig* und mit der *gleichen* Brenzcatechinlösung Messungen von Eichlösungen durchgeführt werden. Es genügt, 4 Meßpunkte festzulegen und sich zu überzeugen, daß sie auf einer Geraden liegen. Die verwendeten Vanadiumkonzentrationen sollen in der erforderlichen Größenordnung liegen. Mit der für alle Versuche zu verwendenden Brenzcatechinmenge von 5 ml einer 20%igen wäßrigen Lösung können noch Vanadiumkonzentrationen bis zu 400 μg V/50 ml erfaßt werden.

Die untere Anwendungsgrenze liegt bei 5 μg V/50 ml, da sich für noch kleinere Vanadiumkonzentrationen ein zu ungünstiges Verhältnis der Extinktionen des Blindwertes E_B zur Extinktion $E_{H_2O}-E_B$ ergibt.

9. Einfluß der Störelemente auf die Extinktion

Im mikrochemischen Trennungsgang liegen neben Vanadium die Elemente Chrom, Molybdän und Wolfram gemeinsam mit dem Vanadium in einer Gruppe vor. Diese drei Elemente können die Vanadiumbestimmung beeinflussen. Ihr Störeinfluß auf die Extinktion wurde jeweils einzeln untersucht.

Einfluß von Chrom. Chrom in Form von Chromat wirkt auf die blaue Brenzcatechin-Vanadiumfarbe extinktionserhöhend. Die Größe der Chromstörung hängt von der Vanadiumkonzentration ab. Gefunden wurde, daß bei der Bestimmung von 100—200 μg V die 10fache, bei der Bestimmung von 10—50 μg V die 5fache Chrommenge nicht stören, wenn als zulässige Toleranz +5% angenommen wird.

Einfluß von Molybdän. Molybdän als Molybdat stört die Vanadium-Brenzcatechinreaktion durch eine Gelbfärbung, die molybdänhaltige Lösungen mit Brenzcatechin ergeben. Es ist festgestellt worden, daß Molybdän extinktionserhöhend auf die Vanadium-Brenzcatechinreaktion

wirkt. Die Größe der Störung ist unabhängig von der Vanadiumkonzentration; Molybdängehalte bis zur 5fachen Vanadiummenge stören weniger als $+5\%$.

Eine gleichzeitige Bestimmung von Molybdän und Vanadium, wie sie von V. Patrovský[3] vorgeschlagen wird, ist insofern wenig vorteilhaft, als die Molybdänbestimmung bei Anwesenheit von Chrom, Vanadium und Wolfram sehr stark gestört wird. Die gleichzeitige Bestimmung scheint nur bei reinen Vanadium-Molybdänlösungen von Vorteil zu sein, wenn die von V. Partovský[3] vorgeschlagene Korrektur der Extinktion bei 430 mμ und 600 mμ vorgenommen wird.

Einfluß von Wolfram. Wolfram in Form von Wolframat wirkt auf die Vanadiumreaktion extinktionserniedrigend. Der Wolframeinfluß ist unabhängig von der Vanadiumkonzentration und der 10fache Überschuß von Wolfram bringt keine größere Störung als -5% mit sich.

Durch Zusatz von Phosphorsäure gleicht sich die extinktionserhöhende Wirkung der Phosphorsäure und die extinktionserniedrigende von Wolfram aus, so daß bei Zusatz von 1 ml Phosphorsäure (1 + 4) Wolfram bis zum 30fachen Überschuß und bei Zusatz von 2 ml Phosphorsäure (1 + 4) Wolfram bis zur 50fachen Menge nicht stört.

Gleichzeitiges Auftreten aller Störelemente. Inwieweit die im vorhergegangenen durchgeführten Einzeluntersuchungen auch beim gleichzeitigen Auftreten aller Störelemente Gültigkeit haben, läßt sich nicht ohne weiteres überblicken, jedoch muß hierzu gesagt werden, daß eine Vielzahl von Versuchen nötig wäre, um diesen Einfluß auch nur annähernd zu charakterisieren. Aus diesem Grunde wird ein anderer Weg zur Umgehung der Störeinflüsse vorgeschlagen, den wir mit Kontrollmessung bezeichnen möchten. Die Kontrollmessungen setzen voraus, daß die Konzentrationen der Störelemente bekannt sind, was bei einer Vollanalyse der Fall ist.

Kontrollmessung. Bei der Vanadiumbestimmung mit Brenzcatechin ergibt sich für den Vanadiumgehalt und die durch Chrom, Molybdän und Wolfram hervorgerufenen Störungen die Extinktion zu

$$E_{Mess} = E \pm \Delta E.$$

Hierbei ist ΔE der durch die Störeinflüsse hervorgerufene Fehlwert. Nach Umrechnung der Extinktion $E \pm \Delta E$ auf die Konzentration mittels der verbindlichen Funktion findet man einen um ΔE mal dem Umrechnungsfaktor f der Funktion* verfälschten Vanadiumwert. Bei

* Die allgemeine Form der Eichfunktion lautet:

$$c' = f \cdot m \pm B,$$

wobei c' die gesuchte Konzentration, f der Eichfaktor, m der Extinktionsmodul, d. h. die gemessene Extinktion $E_{H_2O} - E_B$, bezogen auf 1 cm Schichtdicke, und B der Blindwert bzw. die Korrektur des Eichfaktors f sind.

der folgenden Kontrollmessung wird der verfälschte Vanadiumgehalt als Ausgangskonzentration mit einer Vanadium-Eichlösung eingestellt. Nun werden mittels Eichlösungen die bekannten Konzentrationen an Chrom, Molybdän und Wolfram zugegeben. Die folgende Extinktionsmessung wird um einen dem Wert ΔE annähernd gleichkommenden Betrag größer oder kleiner als die vorausgegangene Vanadiumbestimmung sein, da sich die Vanadiumgehalte der ersten Messung und der Kontrollmessung unterscheiden. Der Differenzbetrag zwischen den beiden Messungen wird nun zu dem bei der ersten Messung gefundenen Wert $E \pm \Delta E$ addiert oder davon subtrahiert. Mittels dieser Kontrollmessung wurde der Wert ΔE annähernd eliminiert, und damit sind die Einflüsse der Störelemente korrigiert, ohne daß eine Vielzahl von Versuchen notwendig wäre.

Zur Erprobung und Erläuterung der Kontrollmessung wurden Eichlösungen untersucht. Die Konzentrationen der Eichlösungen entsprachen in der Zusammensetzung den Analysenangaben von drei aus dem Durferrithandbuch[1] entnommenen Stählen. Hierbei wurden Stähle mit einem sehr ungünstigen Verhältnis zwischen den Konzentrationen der Störelemente und dem Vanadiumgehalt gewählt. Von den Stählen

I. X 90 CrMoV 18 korrosionsbeständiger Stahl mit einem Verhältnis von V:Cr:Mo = 1:180:11;
II. 30 W Co 36 Warmarbeitsstahl mit einem Verhältnis von V:Cr:W = 1:8:30;
III. B Mo 9 Schnellarbeitsstahl mit einem Verhältnis von V:Cr:Mo:W = 1:4:8:2

wurden jeweils 10 Vanadiumbestimmungen durchgeführt.

Tabelle 1. *Anwendung der Kontrollmessung bei Stahluntersuchungen*

Nr.	Wahre V-Konzentration µg/50 ml	Wahre Extinktion m_{sss}	Durch d. erste Messung gefundene Extinktion m_{sss}	Gefundene V-Konzentration µg/50 ml	Fehler in Prozenten vor der Kontrollmessung	Vorgel. V-Konzentration µg/50 ml	Nach der Kontrollmessung gefundene V-Konz. µg/50 ml	Fehler in Prozenten nach der Kontrollmessung
1	2	3	4	5	6	7	8	9
I.	15,0	0,065	0,075	19,0	+ 26,7	19,0	15,4	+ 3,0
II.	30,0	0,103	0,089	24,6	− 18,0	25,0	29,4	− 2,0
III.	70,0	0,203	0,212	73,8	+ 5,4	74,0	69,0	− 1,5

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tab. 1 festgehalten. Die eingetragenen Werte sind die maximalen Abweichungen dieser 10 Untersuchungen.

Aus der Spalte 9 der Tab. 1 ist abzulesen, daß die relativen Fehler kleiner als $\pm 5\%$ sind, während die Vanadiumbestimmung

bei den Gehalten an Molybdän, Chrom und Wolfram ohne die Kontrollmessung bis zu 27% Fehler ergeben würde (vgl. Spalte 6 der Tabelle).

Arbeitsvorschrift

Teil des mikrochemischen Trennungsganges. In einem 150 ml-Becherglas werden etwa 10 mg Untersuchungssubstanz eingewogen. Hierzu gibt man in der genannten Reihenfolge 8 ml Schwefelsäure p.a. (1 + 4), 5 ml konz. Salzsäure p.a. und gegen Ende der Reaktion 5 ml konz. Salpetersäure p.a. Anschließend wird bis zur Bildung von SO_3-Nebeln eingeengt. Nach dem Verdünnen mit bidest. Wasser auf etwa 25 ml wird in der Hitze vorsichtig mit ungefähr 0,5 g Natriumcarbonat bis zur Niederschlagsbildung durch ausfallende Hydroxyde neutralisiert. Man setzt dann noch etwa 1 g Natriumperoxyd p.a. zu, um die Elemente in die höheren Wertigkeitsstufen zu überführen, kocht 30 min zur Zerstörung des Peroxydüberschusses, d. h. bis zum Aufhören des Schäumens und filtriert die noch heiße Lösung durch ein mittelhartes Filter über einen kleinen Schnellauftrichter. Der Rückstand wird mit heißem bidest. Wasser, das 1 g NaOH/l enthält, gut ausgewaschen. Beim Filtrieren soll die Verwendung von Gummiwischern möglichst umgangen werden, da sich bei nichtalkalibeständigen Gummisorten Teilchen aus dem Gummi herauslösen, die bei gleichzeitiger Chrombestimmung das Chromresultat verfälschen. Nach beendeter Filtration befinden sich im Filtrat Cr, Mo, V und W und im Rückstand Fe, Mn, Ti, Ni und Co. Das Filtrat wird auf etwa 15 ml eingeengt und anschließend in einen 50 ml-Meßkolben übergeführt. In aliquoten Teilen dieser Lösung können Chrom, Molybdän, Vanadium und Wolfram parallel bestimmt werden. Bei Vollanalysen können die Elemente Eisen, Mangan, Titan, Nickel und Kobalt aus dem Filterrückstand photometrisch festgestellt werden.

Photometrische Vanadiumbestimmung. Man überträgt einen der Vanadiummenge entsprechenden aliquoten Teil der obigen Lösung in einen 50 ml-Meßkolben, setzt 3 Tropfen 0,01%ige wäßrige *p*-Nitrophenollösung zu und neutralisiert mit 2 bzw. 4 n Schwefelsäure bis zur Farblosigkeit. Unter ständigem Umschütteln wird nacheinander mit 5 ml Ammoniumacetatlösung (500 g Ammoniumacetat p.a. in bidest. Wasser zu 1000 ml gelöst), 5 ml Ammoniumsulfitlösung (kaltgesättigte, wäßrige Lösung) und 5 ml Brenzcatechinlösung (20%ige wäßrige Lösung aus 2mal vakuumdestilliertem Brenzcatechin) versetzt. Nach jeder Reagenszugabe soll der Kolbenhals mit bidest. Wasser abgespült werden. Mit bidest. Wasser wird bis nahe zur Marke aufgefüllt und der Kolben auf 20° C temperiert. 20—40 min nach der Brenzcatechinzugabe wird bei 1210 TT $\triangleq$ 585 mμ gegen Blindlösung gemessen. Die Blindlösung enthält bis auf Brenzcatechin alle anderen Reagentien. Diese Blindlösung korrigiert sowohl die Eigenfärbungen der Reagentien als auch die Färbungen und Trübungen der Stahllösung. Die zeitabhängige Zunahme der Trübung der Brenzcatechinlösung geht nicht in die Blindlösung ein, wird aber durch die *gleichzeitige* Bestimmung von Eichlösungen behoben.

Bis zu 50 μg Vanadium verwendet man 2 cm-Küvetten, bis 100 μg Vanadium 1 cm-Küvetten und oberhalb von 100 μg Vanadium 0,5 cm-Küvetten.

Wenn es (z. B. bei der Stahlanalyse) nur auf die Vanadiumbestimmung allein ankommt, neutralisiert man das oben erhaltene alkalische Filtrat zweckmäßig *vor* dem Kochen und umgeht dadurch das Anätzen der verwendeten Glasgefäße und die damit verbundene Trübung der Lösung. Beim folgenden Kochen der Lösung entsteht durch das Na_2O_2 Natronlauge. Dadurch werden die Lösungen bei Anwesenheit von Indicator wieder gelb gefärbt. Vor der Zugabe von Ammoniumacetat muß dann nachneutralisiert werden, um die Einstellung des richtigen p_H-Wertes zu gewährleisten.

Beleganalysen, Standardabweichung und Varianz

Nach der genannten Arbeitsmethode wurden mehrere Stähle untersucht, deren Gehalte an den vier sich gegenseitig beeinflussenden Legierungselementen in Tab. 2 angegeben sind.

Tabelle 2

Nr.	Zusammensetzung des Stahles				Gefundener V-Gehalt nach der			
					1. Messung		Kontrollmessung	
	V %	Cr %	W %	Mo %	V-Gehalt %	Fehler %	V-Gehalt %	Fehler %
1	0,43	1,02	—	—	0,44	+ 2,3	nicht erforderlich	
2	0,42	2,62	7,47	—	0,41	— 2,4	0,42	± 0,0
3	0,02	17,62	—	2,29	nicht mehr bestimmbar			
4	0,06	0,84	—	0,35	0,08	+ 36,7	0,063	+ 5,0
5	0,44	1,02	—	—	0,44	± 0,0	nicht erforderlich	
6	1,76	0,20	—	—	1,75	— 0,6	nicht erforderlich	
7	0,10	0,94	—	0,14	0,120	+ 20,0	0,103	+ 3,0

Bei den Stählen Nr. 3, 4 und 7 ergeben sich beim Neutralisieren durch die starke Gelbfärbung Schwierigkeiten. Der Umschlag von Gelb nach Farblos des Indicators wird durch die Chromatfarbe vollständig überdeckt. Hier kann der Farbumschlag von Gelbgrün zu Gelbbraun beim Übergang von Chromat zu Dichromat bei Säurezugabe als Anzeichen für die richtige Neutralisation verwendet werden. In dem Stahl Nr. 3 kann der Vanadiumgehalt nicht mehr nach der Brenzcatechinmethode bestimmt werden, denn es bildet sich keine blaue, sondern eine rotbraune Farbe aus. Bei diesem Stahl versagt auch die Anwendung der Kontrollmessung. (Die Gehalte an Cr und Mo in dem Stahl betragen das 881fache bzw. 114fache des Vanadiumgehaltes.)

Bei der Analyse des Stahles Nr. 2 wurde 1 ml Phosphorsäure (1 + 4) zugegeben. Durch die Zugabe von Phosphorsäure erklärt sich auch der geringe Fehler von 2,4% nach der 1. Messung.

Für die Ermittlung der Standardabweichung wurde der Stahl Nr. 1 herangezogen. Es konnte bei 30 Analysen die Standardabweichung — bezogen auf die Extinktion — zu

$$S_E = \pm 0{,}0027$$

bestimmt werden. Bei einem durchschnittlichen Umrechnungsfaktor f von der Extinktion zur Konzentration von 340 ergibt sich die Standardabweichung — bezogen auf die Vanadiumkonzentration — zu

$$S_c = \pm 0{,}92\ \mu g\ V$$

bei einer Varianz von

$$V = \pm 2{,}0\%.$$

Zusammenfassung

Es wird ein Verfahren für die mikroanalytische Bestimmung von Vanadium mit Brenzcatechin in isolierten Carbiden beschrieben. Das Verfahren ist mit einer Varianz von $\pm 2\%$ sehr genau, wenn man seinen mikroanalytischen Charakter beachtet. Obgleich das analytische Arbeiten bei Verwendung von Brenzcatechinlösungen durch deren Unbeständigkeit sehr erschwert wird, kann diese Genauigkeit durch *gleichzeitiges* Messen von Eichlösungen erreicht werden. Für die Carbidanalyse bringt diese Methode, besonders durch die mögliche Parallelbestimmung von Chrom, Molybdän und Wolfram aus einer Einwaage, große Vorteile gegenüber dem Peroxydverfahren, da das Verfahren mit einer unteren Anwendungsgrenze von 5 μg V/50 ml etwa 8mal empfindlicher als die Peroxydmethode ist.

Eine Möglichkeit der Umgehung der Störeinflüsse von Chrom, Molybdän und Wolfram wird ohne weitere Trennung durch die vorgeschlagene Kontrollmessung gegeben.

Literatur

[1] Handbuch der Durferrit-Härtetechnik, 9. erweiterte Auflage. Herausgeber Degussa, Frankfurt/Main. — [2] Patrovský, V.: Chem. Listy **48**, 622 (1954); vgl. diese Z. **144**, 140 (1955). — [3] Patrovský, V.: Chem. Listy **49**, 854 (1955); vgl. diese Z. **150**, 291 (1956).

C. G. Nestler, Karl-Marx-Stadt S6, Scheffelstraße 110

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien des VEB Jenapharm, Jena

Quantitative Ultrarotspektralanalyse fester organischer Verbindungen

Von

K. Heller und U. Wagner

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 3. November 1958)

Für spektralphotometrische quantitative Untersuchungen fester organischer Verbindungen im ultraroten Spektralbereich werden mit Erfolg zwei Präparationsmethoden angewendet. Entweder wird die Probe in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst oder die kristalline Substanz wird innig mit einem gut ultrarotdurchlässigen Einbettungsmittel — meist KBr — vermischt und unter hohem Druck zu einer Tablette gepreßt, deren geringe Inhomogenität meist eine quantitative Auswertung zuläßt. Während Messungen in gelöstem Zustand nur durchgeführt werden können, wenn die Substanz in dem Lösungsmittel hinreichend löslich ist und die Analysenbande nicht im Bereich der Eigenabsorption des

Lösungsmittels liegt, ist die Preßtechnik von diesen Einschränkungen frei, erfordert aber bei quantitativen Messungen oft einen erheblichen zeitlichen und apparativen Aufwand.

Es sind von uns Versuche durchgeführt worden, die Ultrarotspektren glasig erstarrter organischer Verbindungen mit Hilfe der Lambert-Bouguerschen Gleichung quantitativ auszuwerten. Das Verfahren setzt voraus, daß die Substanzen sich beim Schmelzen weder merklich zersetzen noch in ihrer Konstitution verändern, ferner daß sie aus der Schmelze zwischen zwei Platten (NaCl oder KBr) in dünnen Schichten glasig erstarren. Die erste Bedingung ist für eine große Zahl organischer Verbindungen erfüllt (sie hängt letztlich von der nicht beeinflußbaren thermischen Stabilität des betreffenden Moleküls ab). Die zweite Voraussetzung ist unter anderem bei einer großen Zahl von Steroiden gegeben, die in dünnen Schichten (1 μ bis 60 μ) bei rascher Abkühlung glasig erstarrt.

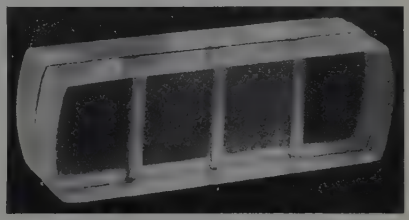


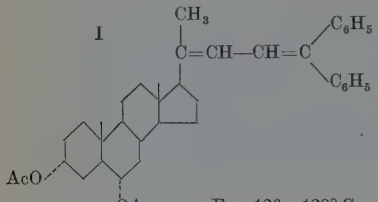
Abb. 1. Meßfertige Einschmelzküvette

Die Einschmelzungen bei unseren Untersuchungen erfolgen in Steinsalz- oder Kaliumbromidküvetten (5 × 2 × 0,8 cm), die vor und während der Einschmelzung durch eine Klammer mit starker Feder zusammengehalten werden. Die beiden aufeinanderliegenden, sorgfältig polierten Flächen sind durch 3 Rinnen in 4 gleichgroße Felder geteilt (Abb. 1). Die Außenkanten der beiden inneren Felder sind gegen die äußeren Rinnen leicht abgeschrägt und bilden eine V-förmige Rinne, die zur Aufnahme der einzuschmelzenden Probe dient. Zwischen den beiden äußeren Feldern sind Aluminiumfolien eingelegt, die die Schichtdicke bestimmen. Die beiden inneren Felder dienen als Meßfelder. Die Küvette wird auf einem elektrischen Heiztisch langsam erwärmt. Dabei liegen in der Außenrinne eines der beiden mittleren Meßfelder einige Milligramm der einzuschmelzenden Probe. Das andere Feld bleibt frei oder dient zur Aufnahme einer Vergleichssubstanz. Beginnt die Probe zu schmelzen, wird die Küvette vom Heiztisch genommen. Durch Capillarwirkung verteilt sich die geschmolzene Substanz gleichmäßig im Meßraum. Nach dem Erkalten kann die Federklammer entfernt werden. Die meßfertige Küvette enthält im Meßfeld die eingeschmolzene, klar durchsichtige und optisch homogene Probe, während das andere Meßfeld im allgemeinen leer ist und zur Bestimmung der Schichtdicke dient, die in einem modernen Ultrarotspektralphotometer interferometrisch mit großer Genauigkeit ermittelt werden kann. Die Messungen wurden mit dem Ultrarotspektralphotometer UR 10 der Fa. VEB Carl Zeiss, Jena, durchgeführt. Meß- und Vergleichsstrahlengang des Zweistrahlspektralphotometers werden durch 2 Blenden (0,8 × 0,3 cm) begrenzt. Zur Messung wird die Küvette unmittelbar vor der Blende des Meßstrahlenganges eingesetzt. Ist die Messung beendet, wird die Küvette auf dem Heiztisch bis zum Erweichen der Probe erwärmt, und die Platten werden zur Reinigung voneinander getrennt. Die erforderliche Substanzmenge bei den Einschmelzungen beträgt je nach Schichtdicke 3—10 mg. Mit kleineren Meßfeldern lassen sich noch Messungen mit einem Drittel der angegebenen Substanzmengen durchführen.

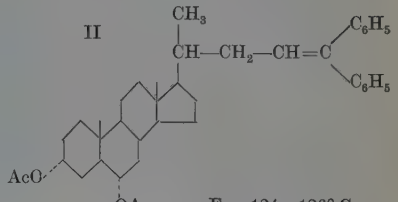
Die Leistungsfähigkeit dieser Präparationstechnik sei an Beispielen der quantitativen Bestimmung von Steroiden, die in ihrer chemischen Konfiguration sehr ähnlich bzw. Ausgangs- und Endprodukt einer chemischen Stufe sind, gezeigt.

1. Messungen an einem konjugierten Dien

$\Delta^{20,(22),23}$-3α, 6α-Diacetoxy-24, 24-diphenylcholadien (I) neben *Δ^{23}-3α, 6α-Diacetoxy-24, 24-diphenylcholen* (II)



Fp.: 126—128° C



Fp.: 124—126° C

Die Ähnlichkeit der beiden Moleküle hat zur Folge, daß sich die Ultrarotspektren beider Verbindungen nur sehr wenig unterscheiden. Analytisch auswertbar ist im Spektrum der Verbindung I nur eine mäßig starke Bande bei 740 cm^{-1}, die wir der =CH-Waggingschwingung der konjugierten Doppelbindung zuordnen. (Die Halbwertsbreite der Analysenbande beträgt 6 cm^{-1} bei einer spektralen Spaltbreite von 6 cm^{-1}.) Hier wie auch bei allen folgenden Messungen ist immer die maximale Absorption ausgewertet worden.

Tabelle 1. *Extinktionsmodul der Analysenbande der Verbindung I bei verschiedener Schichtdicke*

d (mm)	m (mm^{-1})
0,0077	10,64
0,0135	10,56
0,0220	10,65
0,0315	10,63
0,0600	10,63
0,0803	10,52
0,0983	10,54

An dieser Bande wurde zunächst geprüft, inwieweit die Lambert-Bouguersche Gleichung

$$I = I_0 e^{-md}$$

bei der angewendeten Präparationstechnik erfüllt ist. In Tab. 1 ist der Extinktionsmodul m bei einer Änderung der Schichtdicke um etwa eine Größenordnung angegeben. Die Absorption ändert sich dabei von 10—80%. Die Lambert-Bouguersche Gleichung ist im Rahmen der Meßgenauigkeit erfüllt, die Abweichungen betragen weniger als 1% und streuen unregelmäßig.

Für die Bestimmung des Gehalts an I in einer Mischung von I und II wurde so verfahren, daß in einem Meßfeld der Küvette die zu bestimmende Probe eingeschmolzen wurde und in das andere Meßfeld die reine Verbindung I. Mit Mischungen bekannten Gehalts ergaben sich die in Tab. 2 angeführten Werte.

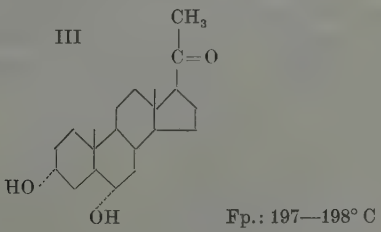
Jede Mischung wurde jeweils dreimal eingeschmolzen und gemessen. Aus der Abweichung des Extinktionsmoduls der Probe von dem gleichzeitig mitbestimmten Extinktionsmodul der reinen Substanz läßt sich unmittelbar der Gehalt der Probe angeben. Die Bestimmung der Schichtdicke ist dabei nicht notwendig. Man wählt in diesem Falle die Schichtdicke so, daß die Bande in einem günstigen Absorptionsbereich liegt. (30—70%). Bei den Messungen betrug die Schichtdicke 25 μ.

Tabelle 2. *Eingewogener und gemessener Gehalt von I in Mischungen von I und II*

Eingewogen I %	Gefunden I %	Abweichung %
78,4	77,4	— 1,0
	77,8	— 0,6
	77,8	— 0,6
86,4	85,5	— 0,9
	87,4	+ 1,0
	85,3	— 1,1
94,4	93,8	— 0,6
	94,9	+ 0,5
	94,3	— 0,1

2. Bestimmung von Ketogruppen neben Estercarbonylgruppen

3α, 6α-Dioxy-pregnan-20-on(III) neben
$\Delta^{20(22),23}$-3 α, 6α-Diacetoxy-24,24-diphenylcholadien (I).



Fp.: 197—198° C

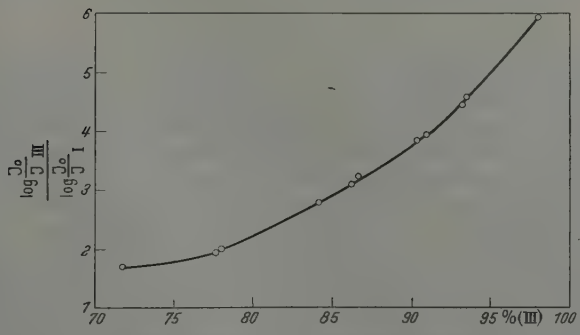


Abb. 2. Eichkurve zur Bestimmung von III

Bei diesen Messungen dienten als Analysenbanden die C=O-Valenzschwingungsbande der 20-Ketogruppe in III bei 1708 cm^{-1} und die

C=O-Valenzschwingungsbanden der Estergruppen in I bei 1740 cm^{-1}. Für die Bestimmung von III in einem Gemisch von I und III wurde eine Eichkurve angefertigt, in der das Verhältnis

$$\frac{\log\left(\frac{Jo}{J}\right)_{III}}{\log\left(\frac{Jo}{J}\right)_{I}} = \frac{E_{III}}{E_I}$$

als Funktion der Konzentration an III aufgetragen wurde. (Abb. 2).

Tabelle 3. *Eingewogener und gemessener Gehalt von III in Mischungen von III und I*

Eingewogen III %	Gefunden III %	Abweichung %
84,2	83,6	− 0,6
91,6	91,0	− 0,6
95,7	96,2	+ 0,5

Es konnte so unmittelbar, wieder ohne Bestimmung der Schichtdicke, der Gehalt einer Probe bestimmt werden. Für bekannte Einwaagen wurden die in Tab. 3 angegebenen Werte gefunden.

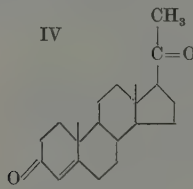
Die Schichtdicke bei diesen Messungen betrug 7 μ.

3. Bestimmung von α, β-ungesättigten Ketogruppen

Δ^4-Pregnen-3,20-dion (IV) (Progesteron) neben *Δ^5-Pregnen-3 β-ol-20-on (V)*

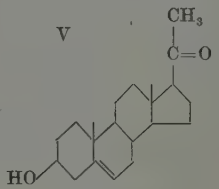
Für diese Bestimmung diente in IV die = CH-Waggingschwingung der zur 3-Ketogruppe konjugierten Doppelbindung als Analysenbande (Halbwertsbreite 20 cm^{-1}, spektrale Spaltbreite 6 cm^{-1}).

IV



Fp.: 128—131° C

V



Fp.: 192—195° C

Es wurde in gleicher Weise gearbeitet wie im ersten Beispiel, also die reine Verbindung IV und die Probe gleichzeitig eingeschmolzen. Die Schichtdicke betrug 25 μ. Für bekannte Mischungen von IV und V wurden die in Tab. 4 angeführten Werte für IV gefunden.

Die Abweichungen der Messungen von den wahren Werten in den angeführten Beispielen dürften in der Hauptsache durch den Fehler in der Durchlässigkeit bedingt sein, der bei den kommerziellen Ultrarotspektrometern 0,2—0,5% beträgt. Fehler, die durch mangelhafte Planparallelität des Meßfeldes oder durch ungleichmäßige Einschmelzung verursacht werden, können leicht erkannt werden, da die Abmessungen der Blenden im Strahlengang so gewählt sind, daß an mehreren Stellen des Meßfeldes die Absorption bestimmt werden kann. Unabhängig davon wird der Fehler in Mehrkomponentensystemen mit abnehmendem Gehalt

der zu bestimmenden Verbindung anwachsen. Die durch Bandenüberlagerung bestimmte Unsicherheit der Messung kann dabei nicht durch größere Schichtdicken ausgeglichen werden (vgl. Eichkurve Abb. 2). Nur wenn mehrere Analysenbanden zur Auswertung herangezogen werden, von denen jede in bestimmten Grenzen eine günstige Auswertung ermöglicht, können Bestimmungen mit gleichbleibender Genauigkeit über größere Konzentrationsbereiche durchgeführt werden.

Tabelle 4. *Eingewogener und gemessener Gehalt an IV in Mischungen von IV und V*

Eingewogen IV %	Gefunden IV %	Abweichung %
80,7	81,0	+ 0,3
	79,8	— 0,9
	81,3	+ 0,6
92,8	93,0	+ 0,2
	92,5	— 0,3
	92,3	— 0,5
98,8	98,6	— 0,2
	98,3	— 0,5
	99,4	+ 0,6

Vergleichbare quantitative Messungen an Steroiden mit Hilfe der KBr-Preßtechnik und in Lösung sind von A. Itō und O. Amakasu[1] an Estradiolbenzoat, Progesteron, Methyltestosteron u.a. durchgeführt worden. Der Fehler der Messungen beträgt in Lösung 1—1,8% und bei der KBr-Preßtechnik etwa 2%. Diese Angaben und andere aus der Literatur bekannte Daten für die Genauigkeiten quantitativer spektralphotometrischer Bestimmungen zeigen, daß mit Hilfe des beschriebenen Verfahrens durchweg genauere Werte erhalten werden können. Die Anwendung der Einschmelztechnik in der quantitativen Spektralphotometrie wird wegen der einfachen Präparation, des Fortfalls von Wägungen und der relativ großen Genauigkeit immer dann vorzuziehen sein, wenn die betreffende Substanz die thermische Behandlung zuläßt und glasig erstarrt.

Zusammenfassung

Es wird eine Aufnahmetechnik für quantitative spektralphotometrische Messungen beschrieben, bei der die Substanz zwischen zwei NaCl- oder KBr-Platten eingeschmolzen wird. An Beispielen quantitativer Messungen an Steroiden der Cholan- und Pregnanreihe mit mindestens 80% Gehalt an dem zu bestimmenden Stoff wird gezeigt, daß der Fehler hierbei im ungünstigsten Falle etwa 1% beträgt.

Literatur

[1] Itō, A., u. O. Amakasu: J. pharmac. Soc. Japan **77**, 1083 (1957); vgl. diese Z. **163**, 230 (1958).

Dr. K. Heller, VEB Jenapharm, Jena, Otto-Schott-Straße

Aus dem Anorganisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen

Die Trennung des Silbers von Blei durch Extraktion als Silberisopropenylacetylid

Von

MAX ZIEGLER, HERBERT SBRZESNY und OSKAR GLEMSER

(Eingegangen am 27. November 1958)

Die unmittelbare Fällung des Silbers als Chlorid bei Gegenwart größerer Mengen an Blei schließt die Gefahr der Mitfällung von Bleichlorid ein.

In einer früheren Mitteilung[2] wurde vermerkt, daß sich außer Palladium auch Silber in der Form substituierter Acetylide aus den wäßrigen Lösungen seiner Salze extrahieren läßt. Als Acetylene sind hierfür brauchbar: Butin-1-ol-3, 3-Methylbutin-1-ol-3, 3-Methylpentin-1-ol-3 sowie Isopropenylacetylen*. Letzteres ist eine bei Zimmertemperatur kristalline, mentholartig riechende, sublimierbare Substanz, die in Alkoholen, Äthern, Estern u. a. Solventien leicht löslich ist. Die anderen genannten Acetylene sind bei Zimmertemperatur flüssig und zeigen eine beträchtliche Löslichkeit in Wasser. Analoges gilt für die Silberverbindungen der betrachteten Acetylene. Deshalb wird wegen der Schwerlöslichkeit seiner Silberverbindung in Wasser das Isopropenylacetylen für die vorliegende Arbeit benutzt.

Einführende Untersuchungen zeigten, daß bei Gegenwart von Isopropenylacetylen mit Methylenchlorid aus wäßriger Bleinitratlösung kein Blei extrahiert wurde. Da die Löslichkeit des Silber-Isopropenylacetylids in Methylenchlorid noch verhältnismäßig gering erschien, wurde gleichzeitig Tributylammoniumacetat zugesetzt. Dadurch wurde die Löslichkeit — offenbar infolge einer Pufferung der nichtwäßrigen Phase — im Methylenchlorid erhöht**.

Aus der nichtwäßrigen Phase kann das Silber durch Schütteln mit verd. Salzsäure als Silberchlorid quantitativ ausgefällt und so leicht bestimmt werden.

Arbeitsvorschrift

Extraktion und Bestimmung des Silbers. Die neutrale oder schwach saure, chloridfreie — falls erforderlich mit Ammoniumacetat auf p_H 3 abgepufferte — Lösung, deren Volumen maximal 25 ml betragen soll, wird im Schütteltrichter mit nur kurzem Rohransatz extrahiert. Man schüttelt 2 mal nach Zusatz von jeweils

* Lieferbar von der Badischen Anilin- u. Soda-Fabrik, Ludwigshafen.

** Die Reaktion wird in Hinblick auf eine weitere Komplexbildung näher untersucht.

2,5 ml Reagenslösung und 6 ml Tributylammoniumacetatlösung aus und benutzt dazu jeweils 10 ml Methylenchlorid als Extraktionsmittel. Die nichtwäßrigen Phasen klären sich schnell und werden abgelassen*. Danach spült man mit 10 ml Methylenchlorid unter schwächerem Schütteln nach. Auf Vollständigkeit der Extraktion prüft man durch Reagenszusatz. Bei etwaigem Auftreten einer stärkeren Opalescenz oder einer Fällung ist eine weitere Extraktion notwendig.

Zur anschließenden Fällung des Silbers als Chlorid werden die vereinigten nichtwäßrigen Phasen im Schütteltrichter mit 10—15 ml 2 n Salzsäure geschüttelt. Dabei setzt sich das Acetylid quantitativ zum Chlorid um. Letzteres wird mitsamt der nichtwäßrigen Phase aus dem Trichter durch einen Tiegel von konstantem Gewicht abfiltriert, und nach erfolgtem Nachwaschen mit salpetersäurehaltigem Wasser sowie mit reinem Wasser bei 130° C zu konstantem Gewicht gebracht.

Tabelle

Silber			Blei	Probevolumen	Verhältnis
gegeben mg	gefunden mg	Fehler %	mg	ml	Pb:Ag
37,7	37,1	— 1,6	—	10	—
47,1	46,3	— 1,7	—	10	—
65,9	65,1	— 1,2	—	10	—
94,2	93,8	— 0,38	—	10	—
	93,93	— 0,26	—	10	—
55,4	54,5	— 1,6	40,2	30	1: 0,8
79,0	79,0	0	353,4	15	1: 3
	78,8	— 0,25	350	20	1: 4,5
	78,8	— 0,25	350	20	1: 4,5
	78,9	— 0,13	470	17	1: 6
	78,5	— 0,63	470	17	1: 6
	79,0	0	670	15	1: 9
	78,8	— 0,25	670	20	1: 9
79,2	79,1	— 0,2	920	20	1:12
	78,0	— 1,26	1000	25	1:13
	78,5	— 0,63	1000	15	1:13
79,2	79,0	— 0,3	1350	25	1:17
40,35	40,3	—0,01	740	20	1:18
39,5	39,1	— 1,0	670	15	1:18
	38,9	— 1,5	1000	20	1:26
	39,3	— 0,5	1000	20	1:26
79,2	78,4	— 1,0	3600	50	1:45
	78,4	— 1,0	3600	50	1:45
	78,3	— 1,1	3600	50	1:45

Bleibestimmung. In der wäßrigen Phase kann der Bleigehalt ohne Beeinträchtigung durch die Reagentien durch Titration mit Äthylendiamintetraacetat[1] bestimmt werden. Hierbei dient Eriochromschwarz T als Indicator. Das Blei wird mit der Genauigkeit der üblichen Titrierfehler in der wäßrigen Phase wiedergefunden.

* Auftretende Niederschläge werden als zur nichtwäßrigen Phase gehörig betrachtet und vollständig mit abgelassen.

Reagentien. 1. Isopropylacetylen, 10%ige Lösung in Methanol. 2. Tri-n-butylammoniumacetat: 100 ml Tributylamin und 100 ml Wasser werden nach Zusatz von 15 g Aktivkohle mit 50 ml Eisessig unter Umrühren und Kühlen versetzt. Nach Zugabe von weiteren 100 ml Wasser fügt man unter Rühren und Kühlen weiterhin 50 ml Eisessig hinzu. Man rührt etwa 15 min lang und filtriert die Aktivkohle ab. Schließlich setzt man unter Rühren noch weitere 70 ml Wasser und 70 ml Eisessig zu, sowie 15 g Aktivkohle und rührt etwa 30 min lang. Danach filtriert man die Kohle ab*.

In der Tabelle (S. 97) sind Werte für Einzelextraktionen des Silbers und für die Trennung Silber/Blei bis zum Verhältnis 1 : 45 wiedergegeben.

Zusammenfassung

Silber ist als Isopropenylacetylid mit Methylenchlorid aus wäßrigen Phasen extrahierbar. Hierbei wird eine Trennung von Blei bis zum Verhältnis Silber: Blei = 1 : 45 erreicht.

Der Badischen Anilin- u. Sodafabrik, Ludwigshafen, danken wir für die Überlassung verschiedener substituierter Acetylene. — Dem Herrn Bundesminister für Atomkernenergie und Wasserwirtschaft sowie der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir sehr für apparative Unterstützung.

Literatur

[1] Flaschka, H., u. F. Huditz: diese Z. **137**, 172 (1952/53). — [2] Ziegler, M., u. O. Glemser: diese Z. **153**, 246 (1956).

Prof. Dr. O. Glemser, Göttingen, Hospitalstr. 8—10

Public Health Laboratories, Cairo, Egypt

Omega Chrome Fast Blue 2 G: A New Metal Indicator for EDTA Titrations

By

A. A. Abd El Raheem

(Eingegangen am 28. November 1958)

Many compounds which form highly coloured complexes with metal ions were used as indicators for chelatometric titrations of metal ions either in pure solutions or in biological fluids. An excellent review concerning these metal indicators was presented by Barnard, Broad and Flaschka[1]. Other indicators were also described by Belcher, Close and West[2]. Schwarzenbach[5] stated that there is a very definite shortage of metal indicators.

The present work is a contribution to the study of the behaviour of Omega Chrome Fast Blue 2 G towards different ions and the practical

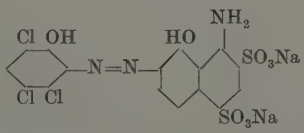
* Das Reagens ist von der Fa. Dr. Theodor Schuchardt/München beziehbar.

possibilities of its use as a metal indicator for the detection of the equivalence points in the course of titrations of a number of cations with ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA). This work also includes spot tests for the determination of the sensitivity limits of detection of colour change of the dye in the presence of various cations. Fenugreek mucilage was also included as an agent for increasing the sensitivity of the identification limit.

Properties of Omega Chrome Fast Blue 2 G

It is a dark brown reddish powder, soluble in water and ethanol giving a dark reddish blue solution. The colour of the aqueous solution is very sensitive to p_H variations. At p_H lower than 6, it is wine red in colour with a maximum absorbance at 550—560 mμ. At p_H 7 it is bright blue with a maximum absorbance at 600—610 mμ. At p_H 10 the maximum absorbance manifests itself at the wave length 580—610 mμ; and at p_H 12 the colour is reddish blue with a maximum absorbance at the wave length 560—570 mμ. The colour transition from red to blue with a gradual increase of p_H from the acid to the alkaline range, makes the indicator suitable for the detection of the equivalence points of acid-base titrations. This property is, however, limited because of the sensitivity of the indicator towards metallic ions.

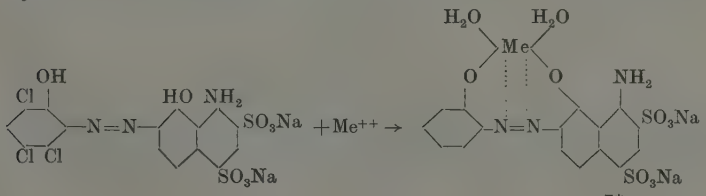
Omega Chrome Fast Blue 2 G is a mono-azo dye produced by Sandoz (Bale). It is also produced by other firms under the trade names Chrome Fast Blue FB and Diamond Fast Blue FB. The structural formula of the dye is as follows:



According to the enteries of the second edition of Colour Index, it is C. I. Mordant Blue 44[6].

Chelate Formation

The chelate compounds are easily prepared by adding a few drops of an aqueous solution of the dye to solutions of heavy metals. The reaction may be written as follows:



The results of the experiments indicated that red coloured chelate compounds were formed regardless of the nature of the acid radicale, but the p_H of the solution must be kept constant by the addition of buffer p_H 10. This is due to the fact that the colour of the dye below p_H 7 is red and the metal complexes formed are also red so that the addition of metallic salts to an acid solution of the dye produces no clearly defined change in colour.

The following ions gave a brilliant colour change from blue to red: Mg^{2+}, Ca^{2+}, Ni^{2+}, Mn^{2+}, Co^{2+}, Ce^{3+} and Ce^{4+}. Bismuth showed a colour change to violet. Ferrous and ferric ions destroyed the colour.

The following ions failed to give a detectable precipitate or colouration: antimony, aluminium, barium, copper, chromate, lithium, mercury, potassium, sodium, stannous, strontium, thallium, uranium, zirconium, acetate, bromate, bromide, chlorate, chloride, cyanide, fluoride, iodide, mandelate, oxalate, nitrate, nitrite, sulphate, sulphite, tartarate and thiocyanate.

As some of these metals have to be kept in solution at p_H 10, a weak complexing agent such as tartarate or citrate was added. In the case of manganese ascorbic acid is added to prevent the formation of hydrated manganic oxide.

Sensitivity Limits

Fenugreek mucilage was used as an effective medium to carry out the limit of identification. This helps in having a much higher concentration in the mucilage than in the solution, so that ions can be concentrated in the precipitated mucilage from very dilute solutions and the sensitivity of the test is therefore increased.

Table 1. *Colour Reactions and Sensitivity Limits of Metallic Ions with Omega Chrome Fast Blue 2G*

Ion	Colour	Identification limit μg	Dilution limit	Identification limit using mucilage μg	Dilution limit
Ba	violet (unstable)				
Ca	wine red	0.18	$1:1.6 \cdot 10^5$	0.08	$1:4 \cdot 10^5$
Co	violet	0.17	$1:1.8 \cdot 10^5$	0.06	$1:5 \cdot 10^5$
Cd	faint red hue	—	—	—	—
Mg	wine red	0.06	$1:5 \cdot 10^5$	0.03	$1:1 \cdot 10^6$
Mn	pink	0.08	$1:4 \cdot 10^5$	0.03	$1:1 \cdot 10^6$
Ni	violet	0.17	$1:1.8 \cdot 10^5$	0.09	$1:3 \cdot 10^5$
Pb	faint red hue				

The detection limit test was performed on a white spot plate by mixing a micro-drop (0.03 ml) of the dye solution with one drop of mucilage, one drop of 95% ethanol, one drop of buffer p_H 10 and one micro-drop of the metal salt solution. Change of colour either around or inside the hair-like precipitate of the mucilage

was reported. Solutions having lower concentrations were prepared by progressive dilution and tested in the same manner. For comparison another experiment was carried out using all reagents except the mucilage. In this way the detection limits were estimated and their corresponding dilution limits were calculated.

Results of these experiments are given in Table 1.

Reagents

Indicator Solution. 0.1 g of Omega Chrome Fast Blue 2G is dissolved in 100 ml of bidistilled water.

EDTA Solution 0.01 M. 3.722 g of reagent grade disodium ethylene diaminetetraacetate dihydrate is dissolved in one liter bidistilled water.

Buffer Solution p_H 10. 13.5 g of ammonium chloride are dissolved in water, then 88 ml of concentrated ammonia are added and diluted to 250 ml.

Metal Salt Solution. 0.01 M solutions of the various metal ions are prepared from analytical grade reagents and standardised against EDTA using Eriochrome Black T or Murexide as indicator according to the usual procedures for the determination of the appropriate cation.

Buffer p_H 8.35. 320 g of ammonium acetate and 30 g of sodium potassium tartarate are dissolved in water, then 40 ml of 2 N ammonium chloride solution are added and the whole diluted with water to 850 ml.

Fenugreek (Trigonella Foenum Graecum L.) mucilage utilised in this test is purified by dissolving it in water, acidifying with dilute hydrochloric acid, then precipitating it with 50% ethanol. The precipitate is squeezed out in a calico bag, dissolved in water, treated with acid again and repricipitated with ethanol. The precipitate is dissolved in water and a viscous colourless or faint straw coloured solution is thus obtained.

Other Reagents. Ascorbic acid, tartaric acid, potassium cyanide, 1% Mn-EDTA solution and ethanol.

Procedures

Determination of Mg, Ca and Mn. Suitable aliquot portions of the metal solution are taken into 50 ml conical flask. The solution is neutralised with ammonium hydroxide, 2—3 ml of buffer solution p_H 10 are added and then sufficient indicator solution to give a visible colour of wine red. The mixture is titrated with 0.01 M EDTA solution until the colour changes to bright blue. In case of titrating manganese, few crystals of ascorbic acid are added. 1 ml of 0.01 M EDTA solution corresponds to 243.2 μg of magnesium, 400.8 μg of calcium and 549.3 μg of manganese.

Determination of Nickel. To an aliquot portion of nickel solution, buffer p_H 8.35 solution and the indicator are added. Titration is carried at about 80° C, until the colour change from violet to blue. 1 ml of 0.01 M EDTA solution is equivalent to 586 μg of Ni.

Determination of Lead or Cadmium. To the lead or cadmium salt solution are added 2 ml of a 1% manganese-EDTA solution, tartaric acid, ascorbic acid and the indicator solution. Titration is then carried as before on cold. 1 ml of 0.01 M EDTA solution is equivalent to 2.0721 mg of Pb and to 1.1241 mg of Cd.

Discussion and Remarks

In the above experiments, fenugreek mucilage which is a colourless polysaccharide and is a salt of silicophosphoric ester of mannogalactose[3] was used as a medium for spot tests. The method has the great advantage of simplicity and sensitivity and moreover the colour change is very

sharp. It was illustrated by spot tests for calcium, magnesium, nickel, cobalt and manganese. Comparison between the results obtained when including this polysaccharide in the spot and without its use showed that the limit of sensitivity was greatly increased and in most cases half the amount of the element tested was sufficient to be detected when using this method.

The results of the representative determinations of the metals given in Table 2 indicate that satisfactory analytical values were obtained by the given procedures for the various metals. Titrations of these metals were carried out in the cold at p_H 10 with an excellent contrast from wine red to bright blue. The standard deviations and probable error of determinations of these metals are 4.2 μg and 2.8 μg for magnesium; 8.4 μg and 5.2 μg for calcium and 7.4 μg and 5.0 μg for manganese.

On trying to apply this indicator for titrating nickel at p_H 10 by complexometric titration, a colour change from wine red to blue with a red hue was obtained and so the exact endpoint cannot be easily located. Titration was possible at p_H 8.35 at an elevated temperature (about 80° C) with a colour change from violet to blue. This contrast in colour although not very sharp is sufficient to locate the exact end point, because the end point errors can be minimised by locating the end point of a single titration several times and then averaging the burette re-readings. The standard deviation and the probable error are 11.4 and 7.6 μg respectively. Owing to the fact that the indicator is not sensitive towards lead and cadmium at p_H 10, use has been made of displacement reaction of Mn-EDTA to obtain an end point of high accuracy.

In contrast to Erio T, Omega Chrome Blue 2 G does not form red complexes with aluminium, cadmium, copper, lead and zinc at p_H 10.

In titrating manganese, there was no need to add tartaric acid as was described by Flaschka[4]. The presence of ascorbic acid was quite sufficient to prevent the formation of hydrated manganic oxide and moreover the titration was readily carried out on cold.

Summary

Omega Chrome Fast Blue 2 G was used as an indicator for the direct titration of calcium, magnesium, manganese and nickel. A displacement reaction was described for the titration of lead and cadmium. Fenugreek mucilage which is a colourless polysaccharide was used as medium for spot tests. The method is illustrated by spot tests for Ca, Mg, Mn, Ni, and Co. It has the advantage of sensitivity and simplicity.

Acknowledgement. The author wishes to express his gratitude to Prof. Ali Hassan, Head of the Nutrition Unit, National Research Centre, for a sample of fenugreek mucilage and for suggesting its use in analytical purposes.

Table 2. *Determination of Cations*

mg of Metal			ml of 0.01 M EDTA Solution		
present	found	difference	calculated	consumed	difference
		A. Ca			
0.589	0.580	0.009	1.47	1.45	0.02
0.742	0.746	0.004	1.85	1.86	0.01
0.937	0.937	0.000	2.34	2.34	0.00
1.603	1.611	0.008	4.00	4.02	0.02
2.341	2.341	0.000	5.84	5.84	0.00
2.693	2.685	0.008	6.72	6.70	0.02
		B. Mg			
0.311	0.316	0.005	1.28	1.30	0.02
0.666	0.669	0.003	2.74	2.75	0.01
1.051	1.051	0.000	4.32	4.32	0.00
1.411	1.406	0.005	5.80	5.78	0.02
1.459	1.462	0.003	6.00	6.01	0.01
2.101	2.101	0.000	8.64	8.64	0.00
		C. Mn			
0.461	0.472	0.011	0.84	0.86	0.02
0.725	0.725	0.000	1.32	1.32	0.00
1.637	1.642	0.005	2.54	2.56	0.02
2.109	2.109	0.000	3.84	3.84	0.00
3.093	3.082	0.011	5.63	5.61	0.02
		D. Ni			
0.704	0.716	0.012	1.20	1.22	0.02
1.731	1.749	0.018	2.95	2.98	0.03
2.193	2.199	0.006	3.74	3.75	0.01
4.155	4.155	0.000	7.08	7.08	0.00
4.848	4.836	0.012	8.26	8.24	0.02
5.176	5.176	0.000	8.82	8.82	0.00
		E. Pb			
4.869	4.869	0.000	2.35	2.35	0.00
5.926	5.947	0.021	2.86	2.87	0.01
6.755	6.734	0.021	3.26	3.25	0.01
9.449	9.470	0.021	4.56	4.57	0.01
14.796	10.837	0.042	5.21	5.23	0.02
14.152	14.152	0.000	6.83	6.83	0.00
		F. Cd			
0.832	0.832	0.000	0.74	0.74	0.00
1.518	1.506	0.012	1.35	1.34	0.01
2.046	2.067	0.021	1.82	1.84	0.02
2.765	2.765	0.000	2.46	2.46	0.00
3.913	3.913	0.000	3.49	3.49	0.00
6.025	6.014	0.011	5.36	5.35	0.01

References

[1] Barnard jr., A. J., W. C. Broad and H. Flaschka: Chemist-Analyst **45**, 86, 111 (1956); **46**, 18, 46, 76 (1957); cf. Z. analyt. Chem. **160**, 143 (1958); **164**, 427 (1958). — [2] Belcher, R., R. A. Close and T. S. West: Chemist.-Analyst **46**, 86 (1957); **47**, 2 (1958); cf. Z. analyt. Chem. **164**, 427 (1958); **166**, 45 (1959). — [3] Daoud, K. M.: Biochemic. J. **26**, 255 (1932). — [4] Flaschka, H.: Mikrochim. Acta (Wien) **39**, 38 (1952); cf. Z. analyt. Chem. **137**, 453 (1952/53). — [5] Schwarzenbach, G.: Complexometric Titrations, p. 105. London: Methuen and Co. Ltd. 1957. — [6] *Society of Dyers and Colourists:* Colour Index, Vol. I, 1956, p. 1521 and Vol. III p. 3096.

Dr. A. A. Abd El Raheem, 39, Falaki Street, Flat 24, Cairo, Egypt

---

Wägebüretten

Von

F. L. Hahn

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 28. November 1958)

Der Gebrauch einer Wägebürette bedeutet keine Last mehr, wenn eine Waage mit automatischer Gewichtsauflage, Dämpfung und Projektionsskala für die Milligramme und ihre Zehntel zur Verfügung steht. Er empfiehlt sich in dem Maße, wie die Anforderungen an die Analysengenauigkeit steigen; eine vorzügliche Wägebürette, die zehnmal so genau ist wie die beste Volumenbürette, kostet etwa den zehnten Teil.

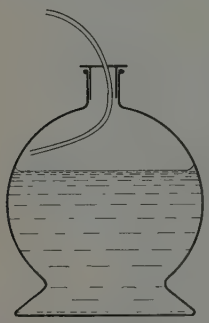


Abb. 1. Wägebürette

Man findet jetzt im Handel Sprühflaschen aus Polyäthylen von der in Abb. 1 gezeichneten Form. Ein gerades Capillarrohr, das vom Boden bis eben durch den Stopfen reicht (nicht gezeichnet), läßt sich herausziehen und das gezeichnete Rohr, Plastikhülle eines möglichst dünnen Leitungsdrahtes, kann von diesem leicht abgezogen und durch den elastischen Stopfen durchgezogen werden; es schließt luftdicht an den Stopfen an.

Dann wird die Bürette gefüllt und der Stopfen aufgesetzt; sie ist damit gebrauchsfertig. Neigt man sie und drückt man dann leicht an, so tritt ein Tropfen aus; läßt der Druck nach, so zieht sich die Lösung sofort und *restlos* in das Innere zurück. Daher findet beim Stehen kein Verdunsten statt; der Gewichtsverlust in einer halben Stunde ist zu 0,1 mg (höchstens 0,2 mg) gefunden worden.

Die Tropfengröße, im Mittel 27 mg in einer der geprüften Büretten und 31 mg in einer anderen, ist damit auf weniger als 0,5% ihres Wertes genau bestimmt; die größten Abweichungen vom Mittelwert erreichen nicht 10%. Somit können für die potentiometrische Analyse zuverlässige Differenzenquotienten gebildet werden. Was das bedeuten kann, darf als bekannt gelten[1].

Literatur

[1] Hahn, F. L.: diese Z. **163**, 169 (1958).

Prof. Dr. F. L. Hahn, Angel Urraza 718—303, Mexico 12, D.F., Mexico

---

Chemical Laboratory, Victoria College, Coochbehar, West Bengal, India

Analytical Aspects of some Azo Dyes from Chromotropic Acid

Part VI*

Analytical Reactions of some 'SNADNS' Dyes

By

Sachindra Kumar Datta

(Eingegangen am 5. Dezember 1958)

A large number of azo dyes from chromotropic acid have been prepared by many workers by coupling with this acid various diazotised aromatic amines and their derivatives. A list of azo dyes prepared from this acid with their practical applications, as found in the literature are given here in Table 1 (p. 106).

The azo dyes prepared by the present author[6], from chromotropic acid for studying their analytical properties are given in Table 2 (p. 106).

Of these, the analytical properties of four dyes, viz., R-1, R-2, R-3 and R-10, have already been studied[7], the analytical behaviour of the rest of the dyes are investigated here.

Experimental

Reagents and Apparatus

All solutions were prepared from reagent grade chemicals. Stock solutions of thorium, zirconium, cerium and other metals were prepared from their soluble nitrates and chlorides and estimated by standard methods. Reagent grade sodium salts of the amines were used for diazotisation and coupling with the sodium salt of chromotropic acid of the same quality. Acetate buffer solutions were prepared from 1 M hydrochloric acid and 1 M sodium acetate solutions.

The p_H was measured with a Photovolt Electronic p_H meter.

---

* Part V: See Z. analyt. Chem. **153**, 89 (1956).

Table 1. *Azo Dyes of Chromotropic Acid and their Uses*

Azo dyes obtd. from	Used as	References
1. Aniline (Chromotrope-2R)	Chromium lake	1
2. p-Dimethylamino benzene (Chromotropic Blue)	Reagent for Cu, Ni, Co	18
3. 5-Nitroaniline	Metal complex dye	16
4. p-Nitroaniline (Chromotrope-2B)	Reagent for Ca, Mg, Tl, Cd, Cu, Bi and Ge	2, 10
5. 2-Hydroxy-5-chloraniline	Reagent for B	9
6. 2-Hydroxy-3-nitro-5-aminobenzene	Dye for wool	10
7. p-Dimethylamino-aniline	Reagent for Tl	9
8. m-Phenylenediamine	Reagent for Tl	9
9. p-Phenylenediamine	Reagent for Tl	9
10. p-Amino-phenol	Reagent for Li, Ca, Mg	11
11. 6-Chloro-carvacrylamine	Reagent for Li, Ca, Mg	4
12. 1-Naphthylamine (Chromotrope-10B)	Chromium lake	1
13. 3-3′-Dimethoxy benzidine	Reagent for Cu	15
14. p-Amino benzoic acid	Anti-serum	14
15. p-(p-Aminophenylazo) benzoic acid	Anti-serum	14
16. o-Arsanilic acid	Reagent for Th, Zr, Al, Ti, V and Hf	12
17. 4-Nitro-2-arsanilic acid	Reagent for Li, Ca, Mg	11
18. p-Arseno-aniline	Reagent for B	17
19. 4-Hydroxy-3,5-disulfo-2-arsanilic acid	Reagent for Li, Ca, Mg	11
20. Sulfanilamide	Chemotherapeutic agent	13
21. m-Sulfanilic acid	Reagent for Tl	9
22. p-Sulfanilic acid	Reagent for Th, Zr, Ca, Tl and F	3,8,9
23. 4-Nitro-2-sulfanilic acid	Reagent for Li, Ca, Mg	11
24. 2-Hydroxy-5-sulfanilic acid	Reagent for Tl	9
25. 2-Hydroxy-6-sulfanilic acid	Reagent for Tl	9
26. 8-Amino-1-hydroxy-5-sulfo-2-naphthylamine	for Technicolor motion picture	19
27. 8-Amino-1-hydroxy-3,6-disulfo-2-naphthylamine	for Technicolor motion picture	19
28. 8-Amino-1-hydroxy-5,7-disulfo-2-naphthylamine	for Technicolor motion picture	19

Table 2. *Azo Dyes of Chromotropic Acid Prepared by Author*

Chromotropic acid coupled with diazotiseed amines	Serial No. of dyes	Abbreviations for the dyes	References
1. 1-Naphthylamine-4-sulfonic acid	R-1	SNADS-4	7
2. 1-Naphthylamine-4-sulfonic acid	R-2	di-SNADNS-4	7
3. 1-Naphthylamine-4-sulfonic acid	R-3	Nitroso-SNADNS	7
4. 1-Naphthylamine-5-sulfonic acid	R-4	SNADNS-5	4
5. 1-Naphthylamine-6-sulfonic acid	R-5	SNADNS-6	4
6. 1-Naphthylamine-8-sulfonic acid	R-6	SNADNS-8	4
7. 1-Amino-2-naphthol-4-sulfonic acid	R-7	2-OH-SNADNS-4	4
8. 1-Amino-8-naphthol-3,6-disulfonic acid	R-8	DSNADNS	4
9. p-Amino-salicylic acid	R-9	CHPADNS	5
10. Sulfanilamide	R-10	SAPADNS	7

Preparation of the Dyes

The azo dyes have been prepared from the appropriate amines and chromotropic acid by the method described earlier. One molar amount of the amine was diazotised and was coupled with one molar quantity of the sodium salt of chromotropic acid. The colour of the dyes varied from dark red and violet to almost black in the solid state. The amount of nitrogen present in the dyes was estimated as usual and results entered in Table 3.

Properties of the Dyes

All the dyes are highly soluble in water. They are stable to heat and light. But they exhibit colour changes in acid and alkaline medium, as shown in Table 3.

Table 3. *Colour Change of the Dyes with p_H*

Serial No. of dye	Dyes	Colour of soln. at diff. p_H			P.C. of N_2	
		Na-salt p_H 7.4	Acid p_H 3	Alkali p_H 8.2	Found	Calc.
R-1	SNADNS-4	Red	Reddish pink	Brownish red	4.13	4.5
R-2	di-SNADNS-4	Pink	Light pink	Pinkish violet	6.10	6.39
R-3	Nitroso-SNADNS-4	Orange	Yellow	Brown	6.13	6.47
R-4	SNADNS-5	Deep red	Pinkish red	Deep red	4.44	4.51
R-5	SNADNS-6	Pinkish red	Bright pink	Crimson red	4.39	4.51
R-6	SNADNS-8	Deep red	Bright pink	Scarlet red	4.46	4.51
R-7	OH-SNADNS-4	Pinkish red	Deep red	Reddish violet	4.31	4.40
R-8	DSNADNS	Reddish pink	Red	Reddish violet	3.71	3.79
R-9	CHPADNS	Crimson red	Blood red	Crimson red	5.02	5.09
R-10	SAPADNS	Deep red	Brownish red	Violet grey	7.59	7.68

Qualitative Tests for Metals

To 2 ml solution of the metal 2 ml buffer solution in case of acid p_H and dilute ammonia and ammonium chloride in case of alkaline p_H, and 0.5 ml of 0.05% dye solution were added. Any colour change if occurred either in the cold or in the hot, was noted and recorded in Table 4 (p. 108). The metals which do not respond to such tests are not recorded. The tests with six azo dyes have been shown, other dyes have already been tested.

Table 4. *Action of the Dyes upon Various Metal Ions*

Serial No. of dye	Metal ion	pH	Colour change	Remarks
R-4 SNADNS-5	Fe^{III}	2.4	Pinkish violet	Fairly stable
	Th^{IV}	2.8	Blue violet	Stable
	Zr^{IV}	2.6	Reddish pink	Colour change not distinct
	Ce^{IV}	2.4	Pink	Fairly stable
R-5 SNADNS-6	Fe^{III}	2.4	Dirty pink	—
	Th^{IV}	2.8	Pinkish blue	Stable
	Zr^{IV}	2.6	Dirty pink	Not very stable, turbidity appears
	Ce^{IV}	2.4	Reddish brown	—
R-6 SNADNS-8	Fe^{III}	2.4	Grey	—
	Th^{IV}	2.8	Violet	Stable
	Zr^{IV}	2.6	Reddish pink	Not distinct
	Ce^{IV}	2.4	Dirty pink	—
R-7 OH-SNADNS-4	Fe^{III}	2.4	Dirty green	—
	Th^{IV}	2.8	Bluish violet	Stable
	Zr^{IV}	2.6	Pinkish violet	Shows turbidity soon on standing
	Ce^{IV}	2.4	Greyish red	—
R-8 DSNADNS	Fe^{III}	2.4	Yellowish green	Not very stable
	Th^{IV}	2.8	Pinkish blue	Stable
	Zr^{IV}	2.6	Dirty violet red	Shows turbidity soon
	Ce^{IV}	2.4	Greyish pink	—
R-9 CHPADNS	Fe^{III}	2.4	Greyish pink	Turns turbid soon
	Th^{IV}	2.8	Pinkish violet	Stable
	Zr^{IV}	2.6	No clear change	—
	Ce^{IV}	2.4	Pinkish red	Unstable

Spot Test Analysis for Thorium

From preliminary experiments, it is found that only thorium could be identified by spot tests by some of the reagents which were performed on filter papers.

Procedure

A drop of the dye solution (0.05%) was placed on a piece of filter paper (Whatman, chromatographic) with the help of a micro pipette, partially air-dried and then at the centre of the spot was placed a drop of the test thorium solution and again partially dried in air; the results are noted in Table 5.

Table 5. *Filter Paper Spot Tests for Thorium*

No.	Dye used	Spot of the dye alone	Spot with dye-test solution	Limiting sensitivity for identification of Th (μg)
R-4	SNADNS-5	Pale red spot with brownish ring at the rim	Pale violet spot	4
R-5	SNADNS-6	Pale pink spot with yellow rim	Bluish spot with grey rim	4.25
R-6	SNADNS-8	Red spot with white rim	Violet spot with bluish rim	3.5
R-7	OH-SNADNS-4	Pinkish spot with colourless rim	Bluish spot	4.25
R-8	DSNADNS	Pale red spot with light yellow rim	Pink spot with bluish rim	4.5
R-9	CHPADNS	Red spot with pinkish rim	Violet spot with pinkish rim	3.0

Discussion

The dyes prepared from chromotropic acid and various aromatic amines are found to be sensitive reagents for thorium. Ten dyes have been prepared, the analytical properties of six dyes have been studied here. All these dyes are found to produce colour reactions with iron(III), thorium, zirconium, and cerium(IV). The soluble coloured products with thorium are more stable than those with other metals. Moreover, the colour changes of the dyes with thorium are sharp and distinct. Spot test analysis of thorium on filter paper reveals that some of the dyes may be used for the identification of thorium in microgram amounts. These dyes show prospects of being used in the spectrophotometric determination of thorium and other metals and as metal indicators in complexometric and fluoride titrations of thorium.

Acknowledgement. The work has been carried out at the Chemical Laboratory of Darjeeling Government College, Darjeeling, for which the author is grateful to the authorities of the College.

References

[1] Appel, W. D., and W. R. Brode: Ind. Engng. Chem. **16**, 797 (1924). — [2] Austin, C. M., and J. S. McHargue: J. Assoc. off. agric. Chemists **31**, 284 (1948). — [3] Banerjee, G.: Z. analyt. Chem. **146**, 417 (1955). — Anal. chim. Acta (Amsterdam) **16**, 56, 62 (1957); cf. Z. analyt. Chem. **157**, 364, 366 (1957). — [4] Bost, R. W., and G. C. Kyker: J. Amer. chem. Soc. **62**, 913 (1940). — [5] Datta, S. K.: Analyt. Chemistry **30**, 1653 (1958). — [6] Datta, S. K.: Naturwissenschaften **43**, 250 (1956); cf. Z. analyt. Chem. **155**, 119 (1957). — [7] Datta, S. K.: Z. analyt. Chem. **149**, 270, 328, 333 (1956); **150**, 347 (1956); **153**, 89 (1956). — [8] Hollingworth, R. P.: Analyt. Chemistry **29**, 1130 (1957); cf. Z. analyt. Chem. **161**, 311 (1958). — [9] Korenman, I. M., V. G. Potiomkina and L. S. Fiodorova: Ž. anal. Chim. **11**, 307 (1956); cf. Z. analyt. Chem. **155**, 132 (1957). — [10] Kulberg, L. M.: Ž. obšč. Chim. **17**, 601 (1947). — [11] Kuznecov, V. I.:

Ž. anal. Chim. **3**, 295 (1948). — [12] Kuznecov, V. I., L. M. Budanova and T. V. Matrosova: Zavodskaja Laborat. **22**, 406 (1956); cf. Z. analyt. Chem. **154**, 361 (1957). — [13] Magidson, O., and M. Rubcov: Ž. obšč. Chim. **10**, 756 (1940). — [14] Pressman, D. et al: California Inst. of Techn. No. 972. — [15] Sandoz Ltd., Swiss: 241415, July, 16 (1946). — [16] Sandoz Ltd., Brit.: 633206, Dec., 12 (1949). — [17] Sommer, L., and M. Hniličková: Chem. Listy **50**, 1573, 1580 (1956); Collect. czechoslov. chem. Commun. **22**, 209 (1957); cf. Z. analyt. Chem. **156**, 358, 438 (1957). — [18] Steigmann, A.: J. Soc. chem. Ind. **66**, 353 (1947). — [19] Technicolor Motion Picture Corp. Brit., 607792, Sept., 9 (1948).

S. K. Datta, Asst. Professor of Chemistry, Victoria College, Coochbehar, West Bengal, India

---

Aus dem Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie Dortmund-Aplerbeck,
in Zusammenarbeit mit der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster

Über Eisen(III)-Verbindungen in chloridhaltigen Verteilungssystemen *

Von
H. Specker und M. Cremer

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 9. Dezember 1958)

Nach früheren Untersuchungen von W. Fischer[2] wird das Eisen(III)-chlorid bei der Extraktion mit organischen Lösungsmitteln aus stark salzsauren oder lithiumchloridhaltigen Lösungen als Tetrachloreisen(III)-säure — $H(FeCl_4)$ — bzw. als Lithiumtetrachloroferrat(III) extrahiert. Diese Ergebnisse sind später aus Remissions- und Absorptionsspektren bestätigt worden[1,3]. Der Extraktionsmechanismus bei der Extraktion aus Lösungen, die Calcium- oder Magnesiumchlorid enthalten, ist noch nicht endgültig geklärt. Weiterhin ist noch nicht bekannt, ob und in welcher Form das Lösungsmittel durch Solvatation in den Extraktionsmechanismus eingreift. Wir haben bei den Lösungsmitteln, die das Eisen mit extrem hohen Verteilungskoeffizienten extrahieren, versucht, den Solvatationsgrad der extrahierten Eisen(III)-verbindung zu bestimmen. Die Meßmethode entspricht dem von H. A. C. McKay[4] bei der Extraktion von Uranylnitrat mit Tributylphosphat in inerten Lösungsmitteln angegebenen Verfahren. In der aus dem Massenwirkungsgesetz abgeleiteten Beziehung $K = a \cdot c^x$ oder $\log K = \log a$

* Teil des Vortrages, gehalten auf der Tagung der Gesellschaft Deutscher Chemiker; Fachgruppe „Analytische Chemie" am 24. Oktober 1958 in Marburg/Lahn.

$+ x \log c$ (K = Verteilungskoeffizient, c = Konzentration des Tributylphosphats oder eines anderen aktiven Lösungsmittels in dem inerten Lösungsmittel z. B. Isooctan, Heptan u. a., a = Konstante, x = Anzahl der koordinativ gebundenen Lösungsmittelmolekeln) ergibt sich eine einfache Möglichkeit, aus der Steigung der Kurve ($\log K$ gegen $\log c$) den Solvatationsgrad zu berechnen. Dieses „Grenzgesetz" gilt bis etwa 5% des aktiven Lösungsmittels in der organischen Phase. Voraussetzung für die Anwendung der Methode ist ein genügend hoher Verteilungskoeffizient in den verdünnten Lösungsmitteln, damit eine exakte Analyse des Gehaltes in der organischen Phase möglich ist.

In der Abb. 1 sind die Ergebnisse der Extraktion aus 7 n und 9 n Salzsäure mit 1—5% Tributylphosphat (TBP) in Benzol dargestellt. Bei 7 n Salzsäure hat x den Wert 2,1, aus 9 n Salzsäure den Wert 1,95. Daraus ergibt sich mit großer Wahrscheinlichkeit der Solvatationsgrad 2, demnach eine Verbindung $H[FeCl_4(TBP)_2]$.

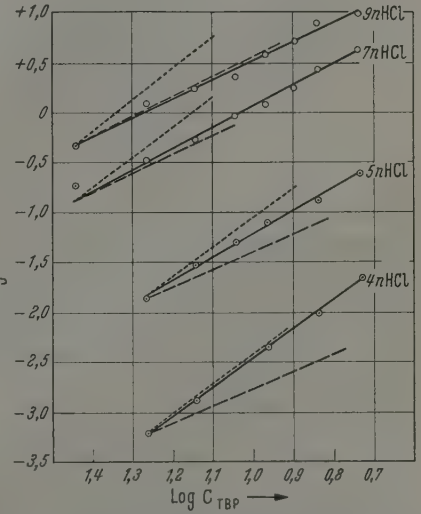


Abb. 1. Solvatation des Eisens in Tributylphosphat-Extrakten. $\log K = \log a + x \log C_{TBP}$ —— gemessene Werte, –·–· $x=2$, ----- $x=3$

Anders dagegen liegen die Verhältnisse bei der Extraktion aus schwächer salzsauren Lösungen. Aus 4 n Salzsäure errechnet sich der Solvatationsgrad x unter sonst gleichen Ausgangsbedingungen zu 2,92, aus 5 n Salzsäure zu 2,41 (siehe Abb. 1). Wir nehmen an, daß das Eisen in diesem Konzentrationsbereich teils als $H[FeCl_4]$, teils als $FeCl_3$ extrahiert wird. Die Absorptionsspektren bestätigen diese Annahme. In diesen Fällen liegen in der organischen Phase die Verbindungen $FeCl_3 \cdot 3$ TBP und $HFeCl_4 \cdot 2$ TBP nebeneinander vor. In Übereinstimmung mit dem Massenwirkungsgesetz ist bei der Extraktion aus sehr starker Salzsäure das Gleichgewicht ganz zum $H[FeCl_4]$ verschoben. Bei schwächer sauren Lösungen reicht die Konzentration der Salzsäure in der stark verdünnten benzolischen Tributylphosphatlösung nicht zur Bildung der Tetrachloroeisen(III)-säure aus; es wird nur $FeCl_3$ extrahiert, wodurch sich der sehr kleine Verteilungskoeffizient auch sofort erklären läßt (Tabelle).

Der um Zehnerpotenzen größere Verteilungskoeffizient aus 7 n und 9 n Salzsäure unter sonst gleichen Bedingungen erklärt sich dagegen nur durch die Bildung der Tetrachloreisensäure[1].

Tabelle. *Verteilungskoeffizient von Eisen(III)-chlorid aus salzsauren Lösungen mit benzolischem Tributylphosphat*

4n HCl		9n HCl	
C_{TBP}%	K	C_{TBP}%	K
1,5	0,0006	1,5	0,83
2	0,0014	2	1,58
3	0,0047	3	3,96
4	0,010	4	7,85
5	0,023	5	9,27

Die auf Grund der Gleichung $k = a \cdot c^x$ experimentell gemessenen Solvatationszahlen $x = 3$ für $FeCl_3$ und $x = 2$ für $H(FeCl_4)$ ergeben zwanglos die vom Eisen(III)-ion bevorzugte Koordinationszahl 6. Die Ergebnisse stehen in guter Übereinstimmung mit den Solvatationszahlen der Nitrate dreiwertiger Lanthaniden $[Me(NO_3)_3 \cdot (TBP)_3]$[5] und höherwertiger Actiniden, z. B. Thoriumnitrat $[Th(NO_3)_4 \cdot (TBP)_2]$ und $UO_2(NO_3)_2 \cdot (TBP)_2$[4].

Es ist bekannt, daß sich die Salzsäure bei Extraktion des Eisens teilweise oder ganz durch Lithium-, Calcium- oder Magnesiumchlorid ersetzen läßt. Die Verbindung $Li[FeCl_4]$ konnte bereits von W. Fischer[2] in der organischen Phase nachgewiesen werden. Es ist auffallend, daß in Gegenwart von Eisen(III)-chlorid aus Calciumchloridlösungen viel mehr Calcium extrahiert wird als aus gleichen Lösungen ohne Eisen. Um die Konkurrenz der freien Tetrachloroeisensäure auszuschalten, haben wir die schwach saure, eisenchloridhaltige 3,2 n Calciumchloridlösung weitgehend mit Natronlauge neutralisiert und dann mit Tributylphosphat extrahiert. Aus der Farbe des Extraktes und den Absorptionsspektren geht eindeutig hervor, daß auch dann das Eisen bevorzugt als Tetrachloroferrat extrahiert wird. Die berechneten molaren Extinktionskoeffizienten reiner Tetrachloreisensäure — $H[FeCl_4]$ — in Tributylphosphat und aus Calciumchloridlösungen ergeben gleiche Werte ($\varepsilon = 1{,}2$ bis 1,3 bei 532 mμ). Es stehen aber nicht soviel H^+-Ionen zur Verfügung, daß alles Eisen als $H[FeCl_4]$ extrahiert werden könnte. Auch die konduktometrische Titrationskurve der organischen Phase mit Triäthylamin in Butanol weist nicht auf eine freie Säure hin. Sonst müßte die Leitfähigkeit, wie vergleichende Titrationen aus saurer Lösung zeigen, zu Beginn der Titration viel stärker abfallen (Abb. 2). Die Analysenergebnisse der organischen Phase zeigen bei Berücksichtigung des

Blindwertes allerdings kein klares Bild. Im mittleren Bereich der Calciumkonzentration (2—4 n) beträgt das Verhältnis Ca : Fe etwa 1 : 2. Bei höheren Konzentrationen nähert sich das Verhältnis Ca : Fe dem Wert 1 : 1. Wir möchten darum mit gewissem Vorbehalt annehmen,

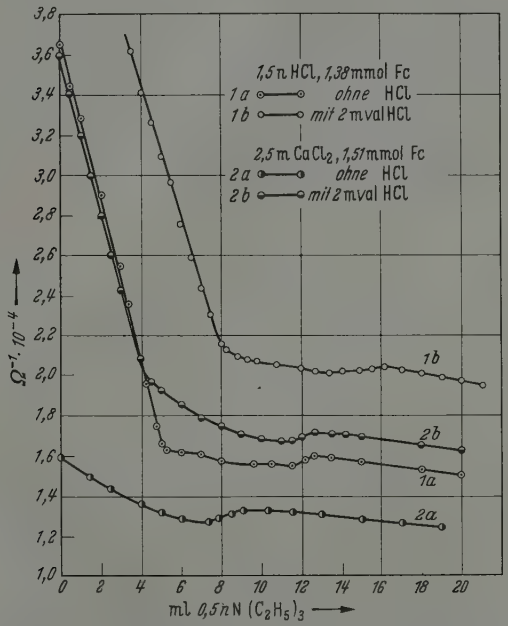


Abb. 2. Konduktometrische Titration von Fe^{III}-Extrakten aus Tributylphosphat *1a* aus 1,5 n HCl; *b* desgleichen mit 2 mval HCl; *2a* aus 2,5 m $CaCl_2$; *2b* desgleichen mit 2 mval HCl

daß in Abhängigkeit von der Calciumchloridkonzentration der wäßrigen Phase in der organischen Phase neben wenig $FeCl_3$ verschiedene Calciumchloroferrate auftreten können.

Zusammenfassung

Bei der Extraktion von Eisen(III)-chlorid aus salzsauren Lösungen mit 1—5% Tributylphosphat in Benzol wird das Eisen aus konzentrierter Salzsäure als Tetrachloroeisensäure, aus schwächeren Säuren als $FeCl_3$ extrahiert. Die aus der Beziehung $K = a \cdot c^z$ berechneten Solvationszahlen ergeben für das Eisen(III)-chlorid die Formel $FeCl_3 \cdot 3TBP$, für die Tetrachloroeisensäure die Verbindung $H[FeCl_4] \cdot 2TBP$.

Bei der Extraktion von Eisen(III)-chlorid aus fast neutralen Calciumchloridlösungen weisen analytische Daten, Absorptionsspektren und

konduktometrische Titrationen auf Calciumchloroferrate hin; die früher angenommene Extraktion als Tetrachloroeisensäure aus neutralen chloridhaltigen Lösungen ist unwahrscheinlich.

Literatur

[1] Bankmann, E., u. H. Specker: diese Z. **162**, 18 (1958). — [2] Fischer, W.: Naturforsch. Med. Dtschl. 1936—1946, **23**, 32—34. — [3] Friedmann, H. L.: J. Amer. chem. Soc. **74**, 5 (1952). — [4] McKay, H. A. C.: Progress in Nuclear Energy, Series III. Process Chemistry, Vol. I, 122 (1956). — [5] Peppard, D. F., W. J. Driscoll, R. J. Sironen and S. McCarty: J. inorg. nuclear Chemistry **4**, 326 (1957).

Prof. Dr. H. Specker, Dortmund-Aplerbeck, Institut für Spektrochemie, Marsbruchstr. 186

Aus dem chemischen Laboratorium der Versuchsanstalt der Metallwerke Plansee AG, Reutte/Tirol

Zur komplexometrischen Titration von Molybdän

I. Mitteilung

Von

E. Lassner und R. Scharf

(Eingegangen am 10. Dezember 1958)

Pecsok und Sawyer[4] berichten erstmalig, daß Molybdän sowohl in fünf- als auch in sechswertiger Form Chelate mit ÄDTA zu bilden imstande ist. Sajo[8] stellt eine Komplexzusammensetzung $2\,Mo^{VI}:1$ ÄDTA fest und gibt an, daß sechswertiges Molybdän durch Mannit gegenüber ÄDTA maskierbar ist. Genauere Angaben über eine Titration werden nicht gemacht. Ramana Rao[7] führt die Existenz eines 2:1-Komplexes von MoO_2^{2+} mit ÄDTA bei p_H 2,5 an. Die ersten exakten Angaben über eine komplexometrische Molybdäntitration haben kürzlich Kinnunen u. Wennerstrand[1] mitgeteilt: Eine im Überschuß mit ÄDTA versetzte Molybdänlösung wird mit Zinkmaßlösung rücktitriert, wobei Xylenolorange als Indicator dient. Die Titration erfolgt bei p_H 5—5,5 unter Eiskühlung. Die Verfasser geben jedoch an, daß der Farbumschlag beim Titrationsendpunkt nicht sehr ausgeprägt ist und daher keine genauen Resultate erhalten werden. Die Zusammensetzung des Komplexes wird mit 1:1 angegeben. Bei ähnlichen Versuchen Wolfram zu titrieren, ist eine Komplexzusammensetzung von 2:1 festgestellt worden.

Alle übrigen, die komplexometrische Bestimmung von Molybdän beschreibenden Arbeiten[3,9] bedienen sich indirekter Methoden, wobei Molybdat mit Calciumlösung gefällt und im Anschluß daran das im Niederschlag enthaltende Calcium mit ÄDTA titriert wird.

Eigene Versuche, Molybdän in sechswertiger Stufe durch komplexometrische Titration zu bestimmen, haben in Analogie zu den von KINNUNEN und WENNERSTRAND[1] gemachten Erfahrungen keine befriedigenden Resultate erzielt. Sowohl direkte Titrationen (Brenzcatechinviolett als Indicator), als auch Rücktitrationen mit verschiedenen Metallsalzlösungen versagen auf Grund des undeutlichen und schleppenden Farbumschlages beim Titrationsendpunkt. Beim Rückmessen von überschüssigem ÄDTA kommt es außerdem beim Überschreiten des Äquivalenzpunktes meist zu einer Verdrängung von Molybdän aus dem Komplexonat.

Da Wolfram ebenfalls mit ÄDTA Chelate bildet[1], eine Molybdänbestimmung jedoch nur in Gegenwart von Wolfram von praktischem Interesse ist — es gibt eine ganze Reihe ausgezeichneter Molybdäntitrationen bei Abwesenheit von Wolfram. aber keine sehr gute in seiner Gegenwart — haben wir keine weiteren Versuche in dieser Richtung unternommen.

Im weiteren haben wir Molybdän(V)-lösungen mit ÄTDA zu titrieren versucht. Der Komplex des fünfwertigen Molybdäns mit ÄDTA ist, wie aus dem Folgenden hervorgeht, wesentlich stabiler, als der Molybdän(VI)-komplex und sowohl im sauren, als auch im alkalischen Bereich beständig. Seine Bildung ist leicht an der relativ intensiven Gelbfärbung beim Einbringen von ÄDTA in eine Molybdän(V)-lösung von p_H 1 zu erkennen. Eine solche Lösung zeigt bei p_H-Erhöhung zum Unterschied einer ohne ÄDTA-Zusatz keine Fällung. Die große Robustheit des Molybdän(V)-ÄDTA-Chelats wird durch den Umstand deutlich, daß Molybdän(V) bei p_H 1,5 wohl kein Wismut aus seinem ÄDTA-Komplex verdrängt, einmal gebildetes Molybdän(V)-komplexonat jedoch nicht durch Wismution zerlegt wird. Aus Kupferkomplexonat wird durch Molybdän(V) eine äquivalente Menge Kupferion in Freiheit gesetzt.

Bei allen Versuchen ist eine Komplexzusammensetzung von Mo^V: ÄDTA = 2:1 festzustellen.

Wir haben obige Erfahrungen dahingehend ausgenutzt, fünfwertiges Molybdän durch Rücktitration eines zugegebenen ÄDTA-Überschusses mit Kupfermaßlösung bei p_H 4 zu bestimmen. Als Indicator wird PAN verwendet. Die Titration wird zweckmäßig in heißer Lösung und mit Zusatz von Methanol durchgeführt, da es durch die geringe Löslichkeit des Kupfer-PAN-Komplexes in kalter, rein wäßriger Lösung ansonsten leicht zu Störungen kommt.

Versuche bei p_H 1—2 mit Wismutlösung und Xylenolorange als Indicator rückzutitrieren, haben schlechtere Ergebnisse gezeigt, da der Farbumschlag wesentlich undeutlicher ist.

Die Reduktion des Molybdäns von der sechswertigen zur fünfwertigen Form wird durch einige Minuten langes Sieden der mit ÄDTA-Überschuß und Hydrazinsulfat versetzten Lösung durchgeführt.

Diese Art der Reduktion gelingt jedoch nicht in Gegenwart von Wolfram, das eine vollständige Reduktion des Molybdäns verhindert. Dabei kommt es zu intensiven Färbungen der Lösung. Die Störung läßt sich leicht durch Zusatz von Weinsäure zur Maskierung des Wolframs beheben. Es gelingt auf diese Art, die Titration auch neben erheblichen Wolframkonzentrationen durchzuführen.

In Verbindung mit den von Püschel, Lassner und Scharf[2,5,6] ausgearbeiteten Titrationsverfahren bietet die neue Methode große Vorteile bei der Bestimmung von Molybdän und Wolfram nebeneinander.

Die Gelbfärbung des Molybdän-ÄDTA-Chelats in Verbindung mit der Weinsäuremaskierung des Wolframs dürfte auch eine photometrische Bestimmung größerer Mengen Molybdän neben Wolfram gestatten. Über Untersuchungen in dieser Richtung werden wir in einer folgenden Arbeit berichten.

Experimentelles

Lösungen und Reagentien

0,05 m Molybdänlösung. hergestellt durch Auflösen von 8,83 g Ammoniummolybdat p.a. in Wasser und Auffüllen zum Liter. Die genaue Titerstellung erfolgte durch Titration mit Bleimaßlösung[6].

0,05 m Kupferlösung. 12,48 g Kupfersulfat-pentahydrat wurden in Wasser gelöst und zum Liter aufgefüllt. Der genaue Gehalt der Lösung wurde durch komplexometrische Titration ermittelt.

PAN-Indicator. 0,1%ige alkoholische Lösung. Ferner sind erforderlich *0,05 m ÄDTA-Lösung,* etwa *0,05 m Wolframlösung, Hydrazinsulfat* und *krist. Weinsäure, Schwefelsäure (1:1), konz. Ammoniak.*

Arbeitsvorschrift

Die annähernd neutrale Lösung wird mit einem gemessenen Überschuß an 0,05 m ÄDTA-Lösung versetzt und nach Zugabe von 5 g Weinsäure und 2—3 g Hydrazinsulfat mit 2 ml Schwefelsäure (1:1) angesäuert. Man erhitzt zum Sieden und kocht weitere 5 min. Sodann wird mit Ammoniak auf p_H 4 gebracht, mit $^1/_3$ des Volumens an Alkohol und 5—8 Tropfen Indicatorlösung versetzt. Man titriert nun heiß mit 0,05 m Kupferlösung bis zum Farbumschlag nach Violett und anschließend mit ÄDTA auf reines Gelb.

Da die Genauigkeit der Titration durch den Tropfenfehler begrenzt ist, empfiehlt es sich, den Endpunkt mehrmals einzustellen und den Mittelwert der einzelnen Ablesungen zu bilden. Dadurch ist der Äquivalenzpunkt auf Bruchteile von Tropfen genau ermittelbar.

Bei höheren Molybdänkonzentrationen der Probelösung ist es vorteilhaft, in größerer Verdünnung zu arbeiten, da sonst die starke Gelbfärbung den Farbumschlag schlecht erkennen läßt.

1 ml 0,05 m ÄDTA-Lösung entspricht 9,595 mg Mo.

Resultate

Die Tabelle enthält einen Auszug aus einer großen Reihe von Titrationsergebnissen. Wie ersichtlich ist, beträgt der Fehler bei mehrfacher Endpunktseinstellung $\pm$ 0,01 ml 0,05 m ÄDTA-Lösung

entsprechend 0,096 mg Molybdän. Die Anwesenheit der 20fachen Menge Wolfram führt zu keiner Vergrößerung des Fehlers.

Tabelle. *Titrationsergebnisse bei Verwendung von 0,05 n Lösungen*

ml Mo geg.	mg Mo geg.	ml ÄDTA ber.	ml ÄDTA gef.	mg Mo gef.	mg Mo Diff.	neben mg W
1,14	5,47	0,57	0,575	5,52	+0,05	—
1,14	5,47	0,57	0,57	5,47	0,00	—
2,28	10,94	1,14	1,14	10,94	0,00	—
2,28	10,94	1,14	1,14	10,94	0,00	—
3,42	16,42	1,71	1,71	16,42	0,00	—
3,42	16,42	1,71	1,72	16,50	+0,08	—
5,70	27,37	2,85	2,86	27,43	+0,06	—
5,70	27,37	2,85	2,85	27,37	0,00	—
1,14	5,47	0,57	0,58	5,56	+0,09	10
1,14	5,47	0,57	0,58	5,56	+0,09	100
2,28	10,94	1,14	1,14	10,94	0,00	50
2,28	10,94	1,14	1,137	10,89	−0,05	50
3,42	16,42	1,71	1,72	16,50	+0,08	30
5,70	27,37	2,85	2,85	27,37	0,00	100
5,70	27,37	2,85	2,84	27,28	−0,09	100

Zusammenfassung

Es wird über eine Methode zur komplexometrischen Bestimmung von fünfwertigem Molybdän berichtet, deren Prinzip die Rücktitration eines gemessenen ÄDTA-Überschusses mit Kupferlösung gegen PAN-Indicator darstellt. Der große Vorteil des neuen Verfahrens liegt vor allem darin, daß Wolfram auch bei 20fachem Überschuß keinerlei Störung verursacht und daher eine Trennung der beiden Elemente umgangen werden kann. Zur Maskierung des Wolframs wird Weinsäure verwendet, als Reduktionsmittel dient Hydrazinsulfat. Bei mehrfacher Endpunktseinstellung beträgt der absolute Fehler ± 0,01 ml 0,05 m ÄDTA-Lösung gleichbedeutend 0,095 mg Molybdän.

Literatur

[1] Kinnunen, J., and B. Wennerstrand: Chemist-Analyst **47**, 38 (1958). — [2] Lassner, E., R. Scharf u. R. Püschel: diese Z. **165**, 29 (1959). — [3] Lassner, E., u. H. Schlesinger: diese Z. **158**, 195 (1957); vgl. diese Z. **148**, 232 (1955/56). — [4] Pecsok, R. L., and D. T. Sawyer: J. Amer. chem. Soc. **78**, 5496 (1956). — [5] Püschel, R., E. Lassner u. R. Scharf: diese Z. **163**, 104 (1957). — [6] Püschel, R., E. Lassner u. R. Scharf: diese Z. **163**, 344 (1958). — [7] Rao, D. V. Ramana: Current Sci. **26**, 246 (1957). — [8] Sajó, I.: Magyar Kemiai Folyóirat **62**, 56 (1956); vgl. diese Z. **155**, 202 (1957). — [9] de Sousa, A.: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **12**, 215 (1955); vgl. diese Z. **148**, 232 (1955/56).

Dipl.-Ing. Dr. Techn. E. Lassner, Metallwerk Plansee AG., Reutte/Tirol (Österreich)

Aus dem chem. Laboratorium der Dortmund-Hörder Hüttenunion A.-G., Dortmund

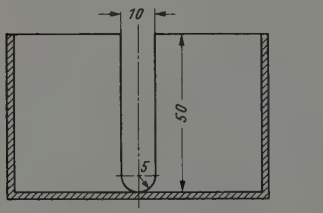
Beitrag zur photometrischen Endpunktsbestimmung bei der komplexometrischen Titration des Calciums und des Magnesiums

Von
E. Stengel und G. Riemer

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 6. Januar 1959)

Die genaue Erkennung des Endpunktes bei der Titration des Calciums mit Äthylendiamintetraacetat in Gegenwart von Murexid als Indicator ist auf visuellem Wege mit Schwierigkeiten verknüpft, weil die Farbwechsel wesentlich mehr Farbempfinden vom Analytiker verlangen als es bei den meisten anderen Indicatoren der Fall ist. Eine gewisse Erleichterung haben H. L. Wengler u. W. Ausel[3] durch Entwicklung eines Titriergeräts erzielt, in dem die Beleuchtung der Lösung von unten erfolgt, jedoch ist auch hier der subjektive Fehler des Beobachters noch zu groß.



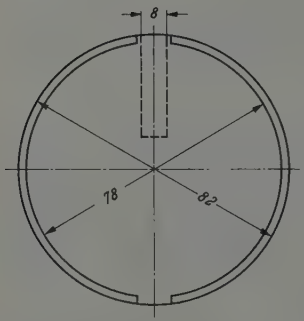


Abb. 1. Becherglashalter

Es hat deshalb auch nicht an Versuchen gefehlt, eine objektive Endpunktserfassung auf optisch-elektrischem Wege zu entwickeln. Erst in jüngster Zeit haben V. Wallraf[2] sowie H. Otterbein[1] Vorschläge zum

Selbstbau von einfachen Apparaturen für diesen Zweck gemacht, die aber wohl in ihrer anspruchslosen Ausführung nur für betriebliche Zwecke gedacht sind.

Da wir wegen der Dringlichkeit einer analytischen Arbeit, bei der die komplexometrischen Calciumbestimmungen sehr genau auszuführen

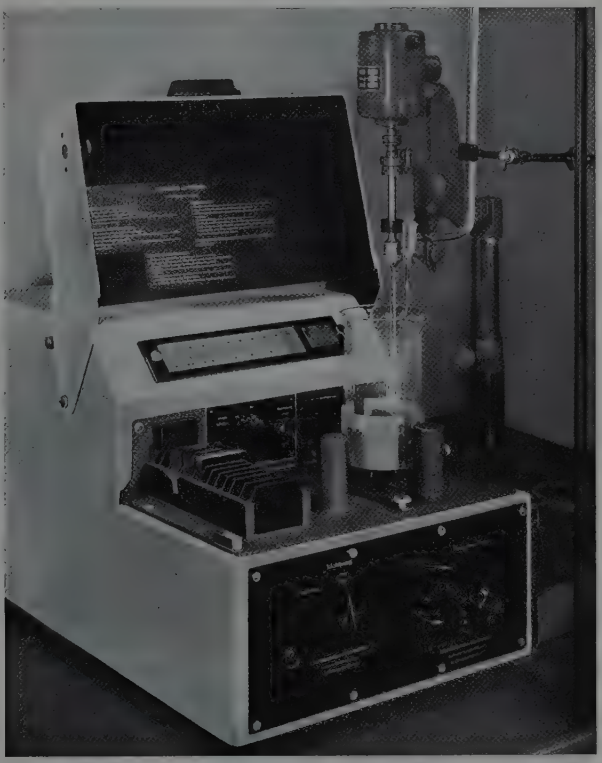


Abb. 2. Titrationsapparatur

waren, die Frage der scharfen Endpunktserfassung einer schnellen Lösung zuführen mußten, kam ein Geräteselbstbau mit all seinen Nachteilen nicht in Frage. Wir griffen daher auf unsere Bestände an lichtelektrischen Photometern zurück und fanden in dem Photometer „Eppendorf" das geeignete Instrument. Bei diesem Gerät war nur eine kleine Änderung hinsichtlich der Aufnahme des Titriergefäßes (Becherglas) notwendig. Hierzu wurde der Küvettenträger nach dem

Lösen der Rändelschrauben abgenommen und dafür ein Becherglashalter eingesetzt, den wir selbst anfertigten.

Dieser Halter hat eine runde, becherähnliche Form mit einem Durchmesser von etwa 8,2 cm und eine Höhe von etwa 5,0 cm. In der Wandung des Halters befinden sich zwei diametral gegenüberliegende, bis zum Boden reichende Schlitze von etwa 10 cm Breite, welche den Lichtstrahlen den Durchgang zur aufnehmenden Photozelle ermöglichen. Außen am Boden des Halters befindet sich noch eine kleine, rechteckige Erhöhung, die unter einem Schlitz beginnend bis zur Mitte reicht und in eine vorhandene Nut auf der Arbeitsbühne des Photometers paßt (Abb. 1). In diesen Halter wird nun das Becherglas mit der vorbereiteten Lösung gesetzt. Ein Rührer, der neben dem Photometer Platz findet, sorgt für eine gute Durchmischung während der Titration. Die ganze Anordnung zeigt Abb. 2.

Bezüglich der Auswahl der Lichtfilter zwischen der Lichtquelle (Quecksilberdampflampe) und der Lösung waren wir an die beim Gerät vorhandenen Filter gebunden. Auf Grund unserer Untersuchungen eignet sich das Filter Hg 578 sehr gut für diese Titration. Infolge der hohen Empfindlichkeit des Geräts kündigt sich der Umschlag des Indicators schon zeitig durch ein langsames Wandern der Lichtmarke des Galvanometers an und gegen Ende der Reaktion werden die je Tropfen zugefügter Lösung zurückgelegten Wege der Lichtmarke etwas größer. Es entstehen am Galvanometer keine störenden Ausschläge, die wieder zurückgehen, sondern die Bewegung der Lichtmarke erfolgt völlig ruhig in nur einer Richtung. Der Endpunkt der Titration ist erreicht, sobald der Zeiger bewegungslos stehenbleibt.

In gleicher Weise läßt sich auch die Summentitration des Calciums und Magnesiums mit Eriochromschwarz T als Indicator ausführen.

Die Anzeige ist in beiden Fällen so scharf, daß man noch mit einer 0,001 m Lösung von Äthylendiamintetraacetat den Endpunkt der Titration auf einen Tropfen genau erfassen kann.

Schließlich hat dieses Gerät noch den Vorteil, daß man bei normalem Tageslicht ohne Verdunkelung des Titrierbechers arbeiten kann, weil es mit Wechelstromverstärkung arbeitet und daher die dem gleich bleibenden Tageslicht entsprechende Gleichspannung nicht verstärkt und auch vom Instrument nicht angezeigt wird. Ferner kann man das Reaktionsgeschehen während der Titration laufend beobachten und mögliche Störungen erkennen.

Zusammenfassung

Es wird eine einfache Zusatzeinrichtung zum Photometer „Eppendorf" beschrieben, die es ermöglicht, dieses Gerät für die sehr genaue Endpunktsbestimmung bei der komplexometrischen Titration einzusetzen.

Literatur

[1] Otterbein, H.: Zement-Kalk-Gips, Nr. 2, 57 (1957). — [2] Wallraf, M.: diese Z. **156**, 332 (1957). — [3] Wengler, H. L., u. W. Ausel: Arch. Eisenhüttenwes. **28**, 7 (1957); vgl. diese Z. **158**, 65 (1957).

Dipl.-Ing. E. Stengel, Dortmund, Rheinische Straße 173

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

III. Analyse organischer Stoffe

1. Elementaranalyse

Mit der Mikrobestimmung von Kohlenstoff und Wasserstoff in pyrophoren und hygroskopischen Verbindungen befassen sich W. P. Pickhardt, L. W. Safranski und J. Michell jr.[1]. Um die Probe unter Ausschluß von Sauerstoff bzw. Feuchtigkeit trocknen und in die Verbrennungsapparatur einführen zu können, schlagen Verff. die Verwendung von 2 Polyäthylenbeuteln vor, die sowohl mit Stickstoff gefüllt als auch evakuiert werden können. In einem Sack wird die Probe getrocknet und in das Wägegefäß mit dem vorher gewogenen Schiffchen eingefüllt. Nach der Wägung wird das verschlossene Wägeschweinchen in den zweiten Polyäthylensack eingebracht, der mit dem Verbrennungsrohr fix verbunden und mit Stickstoff gefüllt ist. Dort wird das Wägegefäß geöffnet und die Probe in das Verbrennungsrohr eingeführt. — *Apparatur.* Man benötigt 2 Polyäthylensäcke im Ausmaß von etwa 58×37 cm, die an 3 Seiten verschweißt sind. Jeder Sack besitzt eine Zu- und Ableitung aus Polyäthylenrohr (etwa 3,2 cm Durchmesser). Diese Ansatzstücke werden einerseits mit einer Vakuumleitung, andererseits mit einer Stickstoff- oder Argonbombe verbunden. Ein Sack ist außerdem gasdicht an das Verbrennungsrohr angeschlossen. Stickstoff bzw. Argon werden vorher durch eine Kühlfalle (Trockeneis) und über Ätzkali geleitet, um Kohlendioxyd und Wasser zu entfernen. Als Wägeschweinchen wird ein verkürztes Absorptionsröhrchen der C-H-Bestimmung verwendet. — *Arbeitsweise.* Probe, Spatel, Pinzette, Schiffchen und Wägegefäß werden in den ersten Polyäthylensack gegeben. Der Sack wird dann an der offenen Seite mehrmals gefaltet, mit Klammern verschlossen und evakuiert. Hierauf läßt man Stickstoff einströmen und wiederholt den Vorgang 4mal. Nun wird die Probe in das Wägegefäß gebracht. Man verschließt das Wägegefäß, entfernt es aus dem Sack und wägt es. Anschließend bringt man das Wägegefäß in den zweiten Sack, der mit dem Verbrennungsrohr verbunden ist, läßt Stickstoff oder Argon einströmen, öffnet das Wägegefäß und schiebt die Probe in das Verbrennungsrohr.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1298—1301 (1958). E. I. du Pont de Nemours & Co., Inc., Wilmington, Del. (USA). G. Kainz

Über automatische Verfahren zur C-H-, N-, O-, S- und Halogenbestimmung in organischen Verbindungen berichtet T. Kôno[1]. Die Verbrennung der Substanz wird mit einer Vorrichtung gesteuert, deren Prinzip von F. O. Fischer[2] angegeben worden ist. Hierzu ist an das Verbrennungsrohr ein Manometer angeschlossen, das die Druckänderungen während der Verbrennung registriert. Steigt der Druck während der Verbrennung zu stark an, so wird durch Elektroden im Manometer über ein Relais der Vorschub des beweglichen Brenners ausgeschaltet. Um die Druckänderungen während der Verbrennung möglichst hoch zu gestalten, ist am Ende des Verbrennungsrohres ein Bremspfropf und am Anfang des Rohres ein Capillarhahn mit einer Injektionsnadel angebracht. Die damit erhaltenen Ergebnisse liegen innerhalb der Toleranzgrenze von 0,3%. — *Apparatur und Arbeitsweise. C-H-Bestimmung.* Es wird ein Gasometer mit konstantem Druck nach I. Mitsui[3] benutzt. Der Capillarhahn zu Anfang des Rohres wird so eingestellt, daß bei einem Überdruck von 10 cm Wassersäule 6—7 ml Luft/Minute durch das Verbrennungsrohr hindurchgehen. Das Manometer ist mit gesättigter Natriumsulfatlösung

gefüllt. Der Vorschub des beweglichen Brenners erfolgt durch einen Synchromotor und soll 13 mm/min betragen. — *N-Bestimmung.* An Stelle des Bremspfropfens wird ein Capillarhahn mit Nadel verwendet. Die Kupferschicht zur Reduktion der Stickoxyde ist außerhalb des Verbrennungsrohres angebracht. Vor der Verbrennung werden 200 ml CO_2 durch die Apparatur geleitet. Die Messung von CO_2 erfolgt durch ein Azotometer, das mit Wasser gefüllt ist und 200 ml faßt. — *Schwefel- und Halogenbestimmung.* Es wird die von G. L. Stragand und H. W. Safford[4] beschriebene Apparatur benützt und mit 2 Capillarhähnen zur Stauung des Gasstromes versehen. Die Probe wird im O_2-Strom verbrannt und die entstandenen Schwefel- bzw. Halogenverbindungen werden von Silberwolle absorbiert, die auf 400—450° C (für Schwefel) bzw. 550° C (Halogen) erhitzt wird. Nach Wägen der Silberwolle löst man unter Umständen vorhandenes Silbersulfat mit Wasser heraus, wäscht mit Aceton und trocknet bei 100° C. Die Gewichtsdifferenz ergibt die Menge Silbersulfat. — *Sauerstoffbestimmung.* Die Bestimmung wird im Stickstoffstrom durchgeführt. Zur Entfernung des im käuflichen Stickstoff vorhandenen Sauerstoffs wird dem N_2-Strom etwa 7% Wasserstoff zugemischt. Dieser wird elektrolytisch aus verdünnter Schwefelsäure erzeugt, die sich in einem Wasserstoffgenerator befindet. Die Füllung des Reaktionsrohres ist folgende: 8 cm Quarzwolle, 5 cm Kupfergries, 15 cm granulierter amorpher Kohlenstoff und ein Pfropf von Platinwolle. Die Kupfer- und Kohlenschicht wird auf 1150° C erhitzt. Das bei der Bestimmung entstehende Kohlenmonoxyd wird über Jodpentoxyd geleitet und das hierbei in Freiheit gesetzte Jod an Silberwolle (Schicht von 5 cm, 440—450° C) absorbiert. Die Jodaufnahme wird gravimetrisch bestimmt. Der Blindwert beträgt etwa 100 μg, das sind 25—30 μg Sauerstoff.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1958**, 461—481. Univ. Tokyo (Japan). — [2] Analyt. Chemistry **21**, 827 (1949); vgl. diese Z. **130**, 447 (1949/50). — [3] Kagaku no Ryoiki **5**, 687 (1951). — [4] Analyt. Chemistry **21**, 625 (1949); vgl. diese Z. **132**, 299 (1951). — Safford, H. W., u. G. L. Stragand: Analyt. Chemistry **23**, 520 (1951); vgl. diese Z. **134**, 377 (1951/52). G. Kainz

Zur gleichzeitigen Bestimmung von Stickstoff, Schwefel und Halogenen in organischen Verbindungen empfehlen A. P. Terentjev, P. N. Fedoseev und N. P. Ivašova[1] die Zerlegung der organischen Substanz durch Erhitzen mit metallischem Calcium statt mit dem früher[2] verwendeten Magnesium. Magnesium wirkt beim Erhitzen glaszersetzend, wobei explosible Si-H-Verbindungen entstehen können, während Calcium bei 700—750° C Glas nicht angreift. — Man vermischt die Einwaage (0,03—0,06 g) in einem einseitig geschlossenen Glasrohr mit 20 bis 30 mg Ca-Pulver und überdeckt das Gemisch mit 1—1,5 g Calcium. Zum Austreiben der Luft werden $1^1/_2$ ml Äther in das Rohr gebracht. Das Rohr wird dann zur Gasableitung mit einem Vakuumschlauch und einem Bunsenventil abgeschlossen. Das Gas wird in einem Glaszylinder über Wasser aufgefangen. Man erhitzt das Rohr mit Gasbrennern oder einem elektrischen Ofen, den man der Einwaage immer näher schiebt, auf 700—750° C. Wenn die Gasentwicklung aufhört, schließt man den Schlauch ab. Bei vollendeter Umsetzung entstehen im Röhrchen Ca-Nitrid, -Sulfid und -Halogenid. Man läßt erkalten, zerstampft das Röhrchen mit Inhalt im Mörser und bestimmt zuerst den *Schwefel* durch Ansäuern und Auffangen des H_2S in Absorptionsgefäßen mit (10%igen Lösungen von)Na-Acetat und $ZnSO_4$; man setzt zu dem vereinigten Inhalt der Absorptionsgefäße einen Überschuß an titrierter Jodlösung hinzu, dessen unverbrauchten Rest man mit Thiosulfatlösung zurücktitriert. Zur *Bestimmung des Stickstoffes* wird die saure Flüssigkeit (nach dem Abdestillieren des Schwefelwasserstoffs) alkalisch gemacht, wonach man das Ammoniak abdestilliert und im Auffanggefäß bestimmt. Den Rückstand säuert man mit Salpetersäure an und bestimmt die *Halogene* am besten nach Volhard,

indem man einen Überschuß an $AgNO_3$-Lösung (nach Abfiltrieren der festen Rückstände) zugibt und den Rest mit NH_4SCN-Lösung in Gegenwart von Eisenalaun zurücktitriert. — Sind nicht alle 3 Elemente aus derselben Einwaage zu bestimmen, so bringt das gewisse Vereinfachungen mit sich (so wird das Verdrängen der Luft durch Äther oder H_2 überflüssig, wenn kein N_2 zu bestimmen ist, der vom Ca auch aus der Luft absorbiert wird). Die Originalarbeit enthält für alle Einzelbestimmungen ausführliche Arbeitsvorschriften, außerdem ist eine Variante der Zersetzungsapparatur beschrieben.

[1] Ž. anal. Chim. **13**, 344—348 (1958) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Schiffbau-Inst., Nikolajev, und Lomonosov-Univ., Moskau. — [2] Fedoseev, P. N., u. N. P. Ivašova: Ž. anal. Chim. **7**, 112, 116 (1952); **11**, 233 (1956); vgl. diese Z. **138**, 67, 284 (1953); **155**, 289 (1957). A. v. Wilpert

Zur raschen Bestimmung von Phosphor in organischen Verbindungen zersetzen R. A. Chalmers und D. A. Thomson[1] die Probe mit einem Gemisch aus Schwefelsäure und Salpetersäure. Die erhaltene Phosphorsäure wird dann zu Phosphormolybdat umgesetzt, das nach Reduktion mit Eisen(II)-sulfat als Molybdänblau photometrisch bestimmt werden kann. — *Arbeitsweise.* 3—10 mg der Probe werden in einem kleinen Kjeldahl-Kolben mit 1 ml konz. Schwefelsäure und einigen Tropfen konz. Salpetersäure versetzt. Man erhitzt das Gemisch bis zum Auftreten dichter Schwefelsäurenebel, kühlt ab, verdünnt mit 1—2 ml Wasser, erhitzt erneut bis zum Auftreten von Schwefelsäuredämpfen, läßt abkühlen, verdünnt mit 4—5 ml Wasser und spült die Lösung in einen 100 ml-Meßkolben. Mit 4×5 ml Wasser wird nachgewaschen. Man gibt nun 20 ml schwefelsaure Ammoniummolybdatlösung (100 g des Reagenses werden in 1 l Wasser gelöst, unter Rühren in ein Gemisch aus 250 ml konz. Schwefelsäure und 700 ml Wasser gegeben und auf 2 l verdünnt) und 10 ml einer frisch bereiteten 10%igen Eisen(II)-ammoniumsulfatlösung zu, mischt nach jeder Reagenszugabe, füllt mit Wasser zur Marke auf, läßt das Reaktionsgemisch 15 min stehen und mißt dann die Extinktion der erhaltenen Farblösung bei 750 mμ unter Verwendung von 1 cm-Küvetten. Ein Blindversuch wird entsprechend durchgeführt. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Zum Aufstellen der Eichkurve (für einen Konzentrationsbereich von 0—1600 μg Phosphor/100 ml Endlösung) werden geeignete Volumen einer (etwa 0,001—0,005 n schwefelsauren) Kaliumdihydrogenphosphatlösung mit 100 μg Phosphor/ml nacheinander mit 8 ml verd. Schwefelsäure (entsprechend 1 ml konz. Schwefelsäure), 20 ml Ammoniummolybdatlösung und 10 ml der Eisen(II)-ammoniumsulfatlösung versetzt und wie beschrieben weiterbehandelt. Beleganalysen zeigen gute Übereinstimmung mit den erwarteten Werten.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **18**, 575—577 (1958). Univ. Old Aberdeen (Großbritannien). K. Machner

Ein Verbrennungsrohr mit modifizierter Füllung zur direkten Mikrobestimmung von Sauerstoff in organischen Substanzen hat K. Imaeda[1] entwickelt (Abb. 1).

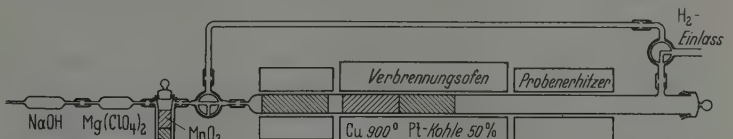


Abb. 1. Verbrennungsprobe zur Sauerstoff-Mikrobestimmung nach Imaeda

Das Gerät stellt eine Vereinfachung gegenüber der bisher verwendeten Apparatur dar, in dem das Oxydationsmittel (J_2O_5 oder CuO) unmittelbar nach der reduzierten Kupferschicht eingebaut ist. Liegen jedoch N-haltige Stoffe vor, so muß eine Waschvorrichtung mit Alkali zwischengeschaltet werden, um die entstandene Cyanwasserstoffsäure zu binden, da diese sonst ebenfalls unter Bildung von CO_2 oxydiert wird und somit höhere Werte an Kohlenmonoxyd und damit des Sauerstoffgehaltes der Verbrennungssubstanz vortäuschen würde. Weiterhin wird bei der Untersuchung schwefelhaltiger Stoffe eine auf etwa 600° C erhitzte Kupferpackung zur Bindung des Schwefels eingeschaltet.

[1] J. pharmac. Soc. Japan **78**, 30—35 (1958) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Med. Fac., Univ. Kyoto (Japan). K. Söllner

Zur Bestimmung der Halogene in organischen Substanzen haben N. V. Sokolova und K. T. Loseva[1] das Verfahren von P. N. Fedoseev und M. Ja. Sobko[2] etwas abgeändert und seinen Anwendungsbereich auf die *Bestimmung von Fluor* in organischen Verbindungen ausgedehnt. Die Mikromethode eignet sich sowohl für niedermolekulare Verbindungen als auch für schwer verbrennliche halogenierte Polymere. Bei Substanzen, die außer Halogen nur C, H und O enthalten, dauert die Bestimmung 35—40 min. Für Nitroverbindungen und schwefelhaltige Stoffe ist das Verfahren nicht anwendbar. — *Ausführung.* 3—7 mg der auf Cl, Br oder J zu untersuchenden Substanz werden in einem Verbrennungsrohr aus Quarz im Platin- oder Quarzschiffchen im Sauerstoffstrom (20—25 ml/min) auf 950 bis 1000° C erhitzt. Die Verbrennungsprodukte mit dem überschüssigen Sauerstoff streichen durch die etwa 14 cm lange Zone des Verbrennungsrohres, die auf 800 bis 850° C erhitzt wird. Das Rohr enthält keinen Verbrennungskatalysator. Bei der Bestimmung von Chlor, Brom und Jod erfolgt die Absorption der Halogene wie bei Fedoseev und Sobko[2] in Kaliumjodidlösung, der Rest wird von KJ-Kristallen in einem Absorptionsrohr aufgenommen. Die Bestimmung geschieht durch Titration mit Thiosulfatlösung, bei der Chlorbestimmung nach Zugabe von Jodat[2]. Der Sauerstoffverbrauch beträgt bei der Verbrennung niedermolekularer Verbindungen 500 ml, bei hochmolekularen Verbindungen 700—800 ml. Zur Analyse fluorhaltiger Verbindungen kommt in das Verbrennungsrohr ein Platinkontakt, der auf 950 bis 1000° C erhitzt wird. Das Absorptionsgefäß enthält Wasser als Absorptionsflüssigkeit, das Verbrennungsrohr wird nach beendeter Verbrennung mit Wasser ausgespült. Die vereinigten wäßrigen Lösungen werden mit 0,5—0,7 g Kaliumjodid und 9 ml 0,02 n Kaliumjodatlösung versetzt. Nach 10 min wird das dem Fluorgehalt äquivalente freie Jod mit 0,02 n Thiosulfatlösung titriert. Die Analysenfehler betragen höchstens $\pm$ 0,3% relativ.

[1] Ž. anal. Chim. **13**, 349—353 (1958) [Russisch]. Inst. hochmol. Verb., Akad. Wiss. UdSSR, Leningrad. — [2] Ž. anal. Chim. **10**, 323 (1955); vgl. diese Z. **153**, 41 (1956). A. v. Wilpert

Ein Nomogramm zur Berechnung organischer Analysen wird von M. Neeman und H. Tabor[1] angegeben, mit dem man einerseits den theoretischen Prozentgehalt der Probe berechnen kann, wenn die Bruttoformel gegeben ist. Andererseits kann man damit die empirische Formel ermitteln, wenn der Prozentgehalt und das Molgewicht der Probe bekannt sind. Es wird ein Sektor mit 500 mm Radius gezeichnet. Der Sektorwinkel beträgt 60°. Die Prozentskala von 0—100 wird am Kreisbogen aufgetragen. Ein Hilfsbogen umfaßt einen Bereich von 0—10%. Auf einem transparenten Plastiklineal wird das Molgewicht (1—500) verzeichnet. Der Drehpunkt dieses Lineals befindet sich an der Spitze des Sektors. Am Sektor selbst werden die

Multipla der Atomgewichte für C, H und N aufgezeichnet. Für die einzelnen Elemente werden verschiedene Farben benutzt.

[1] Bull. Res. Counc. Israel, A 7, 41 (1957). Res. Council, Jerusalem (Israel).

G. KAINZ

2. Qualitative und quantitative Analyse

Zur Bestimmung des Reinheitsgrades von Kohlenwasserstoffen durch Messung der Erstarrungstemperatur schlagen A. G. ANIKIN und G. M. DUGAČEVA[1] eine einfache Apparatur vor, die es gestattet, die Messungen an 1–2 ml der Substanz durchzuführen, die sich in einem doppelwandigen Glasgefäß befinden. Ein durch einen Motor bewegter Rührer bewirkt, daß während des Erstarrungsvorganges flüssige und feste Phase im thermodynamischen Gleichgewicht verbleiben. Die Temperatur wird mit einem geeichten Kupfer-Konstantanthermoelement gemessen, dessen Drähte einen Durchmesser von 0,05 mm haben. Der Verlauf der Erstarrungskurve wird von einem Potentiometerschreiber mit einer Genauigkeit von 0,05° C registriert. Zur besseren Auswertung der Diagramme, deren Haltepunkte zum Teil nur angedeutet sind, wird mit großem Papiervorschub registriert. Verf. ermittelten mit dieser Apparatur folgende Erstarrungspunkte: *n-Hexan* — 95,30° C, *n-Heptan* — 90,57° C, *n-Octan* — 56,73° C, *2,5-Dimethylhexan* — 91,20° C, *Methylcyclopentan* — 142,43° C. Die Schwankungsbreite bei Doppelmessungen beträgt 0,05° C (im Falle des Methylcyclopentans 0,1° C).

[1] Dokl. Akad. Nauk SSSR **119**, 939–941 (1958) [Russisch]. Lomonosov-Univ. Moskau, UdSSR.

H. WUNDERLICH

Die Bestimmung organischer Peroxyde nach K. ÜBERREITER und G. SORGE[1] wird von K. NOVÁK und V. MIKA[2] für die Bestimmung von *Tetrahydronaphthalinhydroperoxyd* verwendet. Dabei wird die Arbeitsweise so modifiziert, daß die Schwierigkeiten der Überreiter-Sorge-Methode umgangen werden. (Reduktion von Methylenblau mit Phenylhydrazin zur Leukobase, sowie deren nachfolgende Auflösung in Benzol). Man faßt diese beiden Vorgänge zu einem zusammen und führt dabei die Reduktion mit Wasserstoff und Palladiumsalz als Katalysator durch. — *Arbeitsweise.* In der Apparatur nach Abb. 1 befinden sich 150 ml Wasser, in denen etwa 200 mg Methylenblau gelöst sind. Man fügt 5 Tr. 0,1%iger wäßriger $PdCl_2$-Lösung zu und überschichtet mit 150 ml Benzol. Leitet man jetzt Wasserstoff durch die Fritte am Boden der Waschflasche in die wäßrige Phase (*B*) ein, so erfolgen Mischung und Reduktion gemeinsam. Die Blaufärbung der wäßrigen Schicht ist nach 5 min verschwunden, das Durchleiten von Wasserstoff wird aber noch weitere 10–20 min festgesetzt. Man verfährt weiter nach [1], indem man 1 ml der Lösung der Leukobase im 20 ml-Meßkolben mit 10 ml 0,2%iger benzolischer Trichloressigsäurelösung verdünnt, die Probe hinzufügt, auffüllt und nach 10 min die im Dunkeln und in inerter Atmosphäre entstandene Blaufärbung bei 645 mμ mißt. — Das Reagens ist nicht länger als 2 Tage

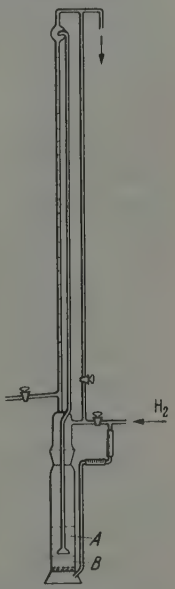


Abb. 1. Schema der Herstellungs- und Entnahmeapparatur für die Lösung der Leukobase des Methylenblaues nach NOVÁK und MIKA. *A* Benzolphase, *B* wäßrige Phase

haltbar. — Bei der Bestimmung von $1{,}5 \cdot 10^{-6}$ bis $8 \cdot 10^{-6}$ mol/l Tetrahydronaphthalinhydroperoxyd sind die Parallelbestimmungen immer voll reproduzierbar.

[1] Angew. Chem. **68**, 352 (1956); Sorge, G., u. K. Überreiter: Angew. Chem. **68**, 486 (1956), vgl. diese Z. **155**, 433, 434 (1957). — [2] Chem. Listy **52**, 751—752 (1958) [Tschechisch]. Forsch.-Inst. makromol. Chem., Brno (Brünn) (ČSR).

H. Freytag

Zur selektiven Mikrobestimmung von Alkoxygruppen eignet sich ein von Vertalier und Martin[1] beschriebenes gasverteilungschromatographisches Verfahren. Die zu untersuchenden Substanzen werden in der üblichen Weise mit Jodwasserstoffsäure umgesetzt; die entstehenden Alkyljodide werden im Stickstoffstrom (3—4 ml/min) abdestilliert (Abb. der Apparatur im Original) und nach Trocknung über Calciumchlorid oder Magnesiumperchlorat in einer mit Kohlensäureschnee gekühlten Kondensatfalle gesammelt. Diese wird danach an den Einlaßteil des Gaschromatographen angeschlossen (Dioctylphthalat auf Celite 545, 2 : 1; Arbeitstemperatur 100° C, Meßtemperatur des Katharometers 75° C, Stickstoff als Trägergas, 1 l/Std). Die Retentionszeiten nehmen mit dem Molgewicht bzw. Siedepunkt zu. Die beschriebene Art der Probenvorbereitung führt zu Substanzverlusten von 25—50% und ist für quantitative Zwecke ungeeignet. Handelt es sich um Substanzen, die nur Methoxy- und Äthoxygruppen enthalten, so läßt sich deren Mengenverhältnis in einfacher Weise bestimmen. Man fängt zu diesem Zweck die bei der Destillation übergehenden Dämpfe von Alkyljodid in einem kleinen, mit 0,2 ml Chloroform beschickten Absorptionsgefäß auf. Einen Teil der resultierenden Lösung führt man in den Gaschromatographen ein. Die Auswertung der Höhenverhältnisse der Elutionsbanden ergibt über lineare Eichkurven das gesuchte Mengenverhältnis, aus welchem im Anschluß an eine klassische jodometrische Gesamt-Alkoxybestimmung die einzelnen Gehalte errechnet werden können. — Eine direkte, gasverteilungschromatographische Bestimmung dieser Gehalte läßt sich so vornehmen, daß man bei der Destillation dem vorgelegten, genau abgemessenen Chloroformvolumen eine definierte Menge (5%) von Methylenchlorid zusetzt, das bei der nachfolgenden Gaschromatographie als innerer Standard dient. Die Bestimmungsfehler liegen bei Einwaagen < 20 mg bei 5—10%, bei Einwaagen > 20 mg unter 5%.

[1] Chim. analytique **40**, 80—86 (1958). Soc. Usines chim. Rhône-Poulenc, Vitry-sur-Seine (Frankreich).

H. Hartkamp

Zur Mikrobestimmung von Methoxyl- und Äthoxylgruppen empfiehlt M. Fukuda[1] eine Verbrennungsmethode, die wie folgt skizziert wird: Zunächst wird die Probe (etwa 3 mg) in einem vorgewärmten und gereinigten Luftstrom mit Jodwasserstoffsäure erhitzt. Das bei der Umsetzung erhaltene Alkyljodid wird dann in ein Verbrennungsrohr ausgetrieben, wo es bei 800—850° C unter Verwendung von Platin als Katalysator zersetzt wird. Hinter dem Platinkontakt befindet sich zur Absorption der Joddämpfe ein Silberdrahtnetz, das auf 300° C erhitzt wird (Abbildung und Beschreibung der verwendeten Apparatur im Original). Die Gewichtszunahme des Silberdrahtnetzes entspricht dem Alkoxylgehalt der Probe. Die Genauigkeit der Methode ist mit $\pm$ 0,2% angegeben. Die Analysendauer beträgt etwa 30 min.

[1] J. pharmac. Soc. Japan **78**, 83—86 (1958) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Univ. Osaka (Japan).

K. Machner

Die Mikrobestimmung von Acetylgruppen wurde von A. S. Inglis[1] eingehend studiert. Ein Vergleich zwischen der jodometrischen und der acidimetrischen Titration von Essigsäure zeigte, daß die acidimetrische Titration exaktere Ergebnisse

lieferte. Die Resultate der jodometrischen Titration lagen bei der Ausführung nach A. FRIEDRICH und H. STERNBERG[2] um etwa 4%, nach I. M. KOLTHOFF[3] um etwa 1% zu tief. Weiterhin untersuchte der Verf. die positiven Anomalien von acetylierten Zuckern. Die stark erhöhten Werte werden durch die Kohlenhydrate, die bei der Verseifung entstehen, verursacht; beispielsweise gab Fructose einen „Acetylwert" von 16,8%. Auch die Methode von W. SCHÖNIGER, H. LIEB und M. G. EL DIN IBRAHIM[4] wurde untersucht, bei der die durch Verseifung entstandene Essigsäure in der Destillationsapparatur nach KJELDAHL abdestilliert wurde. Zur quantitativen Destillation der Essigsäure waren 150 ml Destillat nötig; der Blindwert betrug 0,45 ml 0,01 n Natronlauge. Schwierigkeiten ergaben sich bei N-Acetylverbindungen, die bei der üblichen Verseifung mit 1 n alkoholischer Natronlauge wesentlich zu niedere Resultate ergaben. Als Ursache wird angenommen, daß die N-Acetylsubstanzen bei den früheren Verfahren zur Acetylbestimmung auch während des langsamen Destillationsvorganges weiter verseift wurden, so daß schließlich quantitative Werte resultierten. — Der Verf. schlägt vor, bei der Methode von SCHÖNIGER[4] 30 min mit 5 n Natronlauge in 33%igem Methanol zu verseifen.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1958**, 228—235. Univ. Liverpool (England). — [2] Biochem. Z. **286**, 20 (1936); vgl. diese Z. **120**, 346 (1940). — [3] Pharmac. Weekbl. **56**, 572 (1919). — [4] Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 96; vgl. diese Z. **143**, 367 (1954).
G. KAINZ

Gaschromatographische Bestimmung von Alkoholen, Äthern und Aceton in wäßriger Lösung. Wasser wird an flüssigen Phasen von Äthylenglykolen sehr stark zurückgehalten und kann hierdurch von den schneller wandernden organischen Lösungsmitteln, wie Alkoholen, Äthern und Ketonen abgetrennt werden. S. J. BODNAR und S. J. MAYEUX[1] verwenden als Trennsäulen spiralisierte, 2,1 m lange 9,5 mm starke Kupferrohre, die Triäthylenglykol oder Polyäthylenglykol 400 auf Schamottemehl (C_{22} fire-brick, 30—60 mesh) (3 : 10) als stationäre Phase enthalten. Zwei solche Trennsäulen in Serienschaltung erlauben eine größere Anzahl von Analysen in der Zeiteinheit durchzuführen, da Wasser erst sehr lange nach den organischen Substanzen eluiert wird und in der Zwischenzeit schon wieder die Banden der organischen Verbindungen weiterer, später eingebrachter Analysenproben erscheinen. — Verff. konnten so bei 110°C und einem Trägergasdurchfluß von 80 ml He/min *Diäthyläther*, *Diisopropyläther*, *Aceton*, *Äthylalkohol* und *Isopropylalkohol* in wäßriger Lösung bestimmen. Zur quantitativen Bestimmung wurde die Markierungsmethode mit Methyläthylketon als Markierer („internal standard") benutzt.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1384—1387 (1958). Esso Standard Oil Co., Baton Rouge, La. (USA). E. BAYER

Zur Bestimmung von L-Phenylacetylcarbinol empfehlen O. BAUEROVÁ und Š. BAUER[1] die papierchromatographische Trennung von Methylbenzoylcarbinol, Acetylbenzoyl und Benzaldehyd und die quantitative Auswertung des Flecken mit Hilfe von Tetrazoliumblau [2,2′-p-(Di-o-methoxy)-diphenylen-3,3′,5,5′-tetraphenylditetrazoliumchlorid) nach J. C. TOUCHSTON und CHIEN-TIEN-HSU[2]. Die Flecken färben sich intensiv violett (Empfindlichkeit $5 \cdot 10^{-6}$ g) auf rötlichem Untergrund. Die Flecken werden nach B. KEIL[3] photographiert und im Negativ photometriert. Die Photometerkurven werden planimetriert. Die Flächen sind im Bereich von $10 \cdot 10^{-6}$ bis $70 \cdot 10^{-6}$ der Menge Carbinol direkt proportional. Die Streuung beträgt $\pm$ 5%. — *Ausführung.* Auf der 11 cm vom oberen Rand befindlichen Startlinie (Whatmanpapier Nr. 1, 38×15 cm) trägt man unter Stickstoff mittels Mikropipette im Abstand von 3 cm aus der Lösung von 0,001 g Substanz in 0,5 ml Äthanol soviel auf, daß der Tüpfeldurchmesser 0,5 cm nicht überschreitet. Das Papier imprägniert man mit der organischen Phase (mit wassergesättigtem

Isoamylalkohol) und quetscht den Überschuß zwischen Filtrierpapier mit der Gummiwalze ab. Die Kammer sättigt man vor dem Einhängen des Papiers 24 Std lang mit der organischen und wäßrigen Phase (Wasser mit Isoamylalkohol gesätt.) und chromatographiert absteigend 8—26 Std bei 20 ± 2° C mit wassergesättigtem Isoamylalkohol. Danach trocknet man das Papier 25 min bei 50° C und sprüht mit dem 1:1-Gemisch der 0,2%igen wäßrigen Lösung von Tetrazoliumblau mit 2 n Natronlauge. Nach 3 min wäscht man auf einer Glasplatte mit Wasser aus, trocknet bei Raumtemperatur und wertet nach B. Keil[3] aus.

[1] Chem. Zvesti **12**, 366—369 (1958) [Slowakisch]. (Mit dtsch. u. russ. Zus.fass.) Chem. Inst., Akad. Wiss. Bratislava (Preßburg) (ČSR). — [2] Analyt. Chemistry **27**, 1517 (1955); vgl. diese Z. **153**, 454 (1956). — [3] Chem. Listy **48**, 725 (1954); vgl. diese Z. **146**, 310 (1955); **149**, 231 (1956). H. Freytag

Zur quantitativen Bestimmung von Dimethylphenylcarbinol(I) empfehlen A. V. Sokolov, N. K. Michailjan und G. F. Korotaeva[1] die Dehydratation der Substanz mit anschließender Bestimmung des abgespaltenen Wassers durch Titration mit Fischer-Reagens nach folgender *Vorschrift*: In einen 100 ml-Schliffkolben werden 200 mg Natriumhydrogensulfat eingewogen, dazu gibt man 10 ml Isopropylbenzol und die 0,1—0,3 g I enthaltende Probe. Der Kolben wird am Rückflußkühler bis zum Siedebeginn erhitzt (152° C) und 10 min bei dieser Temperatur gehalten. Der Kühler wird dann mit 10 ml Isopropylbenzol durchgespült und die Lösung auf Zimmertemperatur abgekühlt. Dann pipettiert man — ohne den Bodensatz aufzuwirbeln — 10 bis 25 ml ab und bestimmt den Wassergehalt mit Fischer-Reagens. Ein Blindwert wird unter gleichen Bedingungen ermittelt. Die Methode ergibt selbst bei Gegenwart von Phenol, Dimethylphenyl-p-kresol, Acetophenon und α-Methylstyrol Resultate mit einem Fehler von weniger als 2%.

[1] Ž. anal. Chim. **13**, 368—369 (1958) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Inst. für synth. Alkohole und organische Produkte, Moskau (UdSSR). H. Wunderlich

Zur raschen papierchromatographischen Trennung gesättigter, aliphatischer n-Aldehyde von C_1 bis C_{14} (Methanal bis Tetradecanal) in Form ihrer 2,4-Dinitrophenylhydrazone eignen sich die folgenden, von R. Ellis, A. M. Gaddis und G. T. Currie[1] entwickelten *Arbeitsweisen*: Die Dinitrophenylhydrazone der *C_1—C_6-Aldehyde* werden aufsteigend auf einem mit 1,2-Propandiol (Propylenglykol) imprägnierten Whatman-Papier Nr. 3 mit einem Laufmittel aus 96% Skellysolve (Kp 91—95° C) und 4% Methanol über eine Laufstrecke von 21 cm chromatographiert. Das Imprägnieren des Papieres geschieht durch Eintauchen in eine Mischung aus 20 Vol-Teilen Propylenglykol und 80 Vol-Teilen Methanol und anschließendes einstündiges Trocknen an der Luft. Die auf diesen Papieren gemessenen R_f-Werte steigen mit wachsender Kettenlänge an: *Methanal 0,27*; *Äthanal 0,39*; *Propanal 0,64*; *Butanal 0,74*; *Pentanal 0,88*; *Hexanal 0,94*. Die C_7—C_{14}-Aldehyde laufen mit der Front. Bei stärkerer Imprägnierung (höhere Propylenglykolgehalte im Imprägnierbad) werden niedrigere R_f-Werte gemessen. — Zur Trennung der *C_7—C_{14}-Aldehyde* (als 2,4-Dinithrophenylhydrazone) arbeitet man mit 89%igem wäßrigem Methanol auf einem mit Vaseline imprägnierten Whatman-Papier Nr. 3 (Imprägnierbad: 7%ige Lösung von Vaseline in Skellysolve; nach dem Tränken 15 min lang an der Luft trocknen). In diesem System laufen die Dinitrophenylhydrazone der C_1—C_6-Aldehyde mit der Front; die R_f-Werte nehmen mit steigender Kettenlänge ab: *Heptanal 0,72*; *Octanal 0,65*; *Nonanal 0,60*; *Decanal 0,51*; *Undecanal 0,43*; *Dodecanal 0,38*; *Tridecanal 0,33*; *Tetradecanal 0,24*. Verstärkte Imprägnierung verkleinert auch hier die R_f-Werte. — Die zylindrischen Chromatographiekammern (300 × 38 mm) wurden durch abgewinkelte, in Quecksilber

tauchende Rohre verschlossen. Das erstgenannte Laufmittelsystem erfordert eine Laufzeit von 1 Std 45 min, das zweite eine solche von 6 Std. In beiden Fällen liegen die an Mischungen gemessenen R_f-Werte etwas niedriger als die der einzelnen reinen Komponenten. Versuche, die einzelnen Substanzen über die Abklingzeiten der in alkoholischer Kalilauge gemessenen Maximalextinktionen (430—434 μ) zu identifizieren, blieben ohne Erfolg.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 475—479 (1958). U.S. Dep. Agric., Beltsville, Md.(USA).
H. Hartkamp

Die Reaktion von tertiären Butylperestern mit Jodionen wird nach L. S. Silbert und D. Swern[1] durch Eisen(III)-salze sehr beschleunigt, so daß die jodometrische Bestimmung dieser Ester, sowohl aliphatischer wie aromatischer, genau und in kurzer Zeit durchgeführt werden kann. Die Fehler liegen meist unter 0,5%. — *Ausführung.* 0,1—0,2 g der Probe löst man in 10 ml Chloroform, leitet 20 sec Stickstoff hindurch und gibt 2 ml gesättigte Natriumjodidlösung und 15 ml Eisessig, der die nötige Menge $FeCl_3$ (etwa 10^{-3} Mol je Mol Perester, jedoch höchstens die optimale Menge von 0,002%) enthält, hinzu. Die Lösung läßt man 5—10 min im Dunkeln stehen, verdünnt dann mit 50 ml Wasser und titriert das ausgeschiedene Jod mit 0,1 n Thiosulfatlösung gegen Stärke. Mit den Reagentien wird ein Blindwert ermittelt. — Zur Darstellung der *Lösung von Eisenchlorid* löst man 0,25 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ in 250 ml Eisessig und pipettiert von dieser 0,1%igen Lösung die jeweils erforderliche Menge in den der Probelösung zuzusetzenden Eisessig.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 385—387 (1958). Eastern Reg. Res. Lab., Philadelphia, Pa. (USA). G. Denk

Bestimmung von Jodoform und Aceton. Die von S. Bose[1] angegebene Methode zur Bestimmung von Jodoform beruht auf der quantitativen Umsetzung dieser Verbindung unter Bildung von freiem Jod durch Einwirkung von hellem Sonnenlicht in Gegenwart von Äther und Benzol. Die quantitative Bestimmung von Aceton neben anderen Aldehyden und Ketonen ist nach vorheriger Umwandlung in Jodoform nach diesem Verfahren ebenfalls möglich. Die Fehlerbreite wird mit 0,5% angegeben. — *Ausführung. Bestimmung von Jodoform in äthylalkoholischer Lösung.* Man versetzt 1—10 ml der zu bestimmenden äthylalkoholischen Jodoformlösung (nicht mehr als 0,1 g Jodoform enthaltend) mit 10 ml Äther, 10 ml Benzol, genau 20 ml 0,05 n Natriumthiosulfatlösung und etwa 80 ml dest. Wasser. Nach losem Verschließen des Kolbens mit einem Stopfen, den man während der Reaktion mehrmals anhebt, stellt man das Gefäß in eine flache, mit Wasser von etwa 20° C gefüllte Schale und setzt das Ganze hellem Sonnenlicht aus. Das sich in der Äther-Benzolschicht bildende Jod wird nach zeitweisem Schütteln des Kolbens unter wirbelnder Bewegung durch Natriumthiosulfat gebunden und so eine bleibende Rotfärbung der Äther-Benzolschicht vermieden, die sonst als Filter wirken und den photochemischen Prozeß beeinträchtigen würde. Als Zeitplan für den Schüttelvorgang empfiehlt der Verf. wie folgt zu verfahren: Während der ersten 10 min 1 mal nach jeder Minute schütteln; während der nächsten 10 min 1 mal alle 2 min schütteln; danach 1 mal alle 5 min schütteln, bis die ätherische Schicht farblos erscheint. Nach einer Zeit von etwa 45 min ist die Umsetzung in der Flüssigkeit beendet. Das als Badflüssigkeit dienende Wasser in der Schale ist von Zeit zu Zeit zu erneuern, damit die Temperatur des Kolbeninhalts nicht über 25° C ansteigt. Nach beendeter Reaktion titriert man den Überschuß an 0,05 n Natriumthiosulfatlösung mit 0,05 n Jodlösung zurück unter Hinzufügung von 1 g festem Kaliumjodid und 1 ml Stärkelösung. Ein Leerversuch ohne Jodoform wird angesetzt. 1 ml 0,05 n Jodlösung entspricht 6,566 mg Jodoform. — *Bestimmung von Jodoform in wäßriger*

Suspension. In einen 250 ml-Erlenmeyer-Kolben mit 100 ml dest. Wasser wägt man Jodoform ein, fügt 20 ml Äther hinzu, verschließt den Kolben mit einem Stopfen und schüttelt kräftig bis zur Lösung vom Jodoform. Danach gibt man 10 ml Benzol und genau 20 ml 0,05 n Natriumthiosulfatlösung hinzu und verfährt weiter wie vorstehend beschrieben. — *Bestimmung von Aceton.* Zur Umwandlung in Jodoform versetzt man 2—25 ml der zu untersuchenden wäßrigen Acetonlösung (mit nicht mehr als 6 mg Aceton) mit 100 ml Wasser, 20 ml 0,1 n Jodlösung und 25 ml 1 n Natronlauge, schüttelt um und läßt die Mischung 15 min stehen. Danach säuert man mit 25,5 ml 1 n Schwefelsäure an und titriert das unverbrauchte Jod mit 0,1 n Natriumthiosulfatlösung unter Verwendung von Stärkelösung als Indicator, versetzt die Mischung mit 2 Tr. Phenolphthaleinlösung, titriert mit 1 n Natronlauge bis zur schwachen Rosafärbung, bringt mit 2 Tr. 1 n Schwefelsäure die Rosafärbung wieder zum Verschwinden und gibt schließlich 5 ml 20%ige Natriumacetatlösung hinzu. Das suspendierte Jodoform wird in der vorstehend angegebenen Weise bestimmt. Ein Leerversuch ohne Aceton wird ebenfalls durchgeführt. 1 ml 0,05 n Jodlösung entspricht 0,967 mg Aceton.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1137—1139 (1958). Dpt. of Chemistry, Mahakoshal Mahavidyalaya, Jabalpur (Indien). B. Schühlein

Zur polarographischen Bestimmung von Ameisensäure und Formiaten in wäßriger Lösung empfehlen P. S. Čečel und L. I. Antropov[1] folgende *Methode:* Die nicht mehr als 0,05—0.06 Mol/l enthaltende Probe wird mit Salzsäure auf p_H 3 -4 gebracht und in 0,1 n Natrium- oder Kaliumchloridlösung als Leitsalz polarographiert. Zur Unterdrückung der Maxima werden zu je 10 ml der Probelösung einige (maximal 6) Tropfen einer gesättigten Tribenzylaminlösung gegeben. Die Auswertung kann nach der Zusatzmethode oder an Hand von Eichdiagrammen erfolgen, wobei auf genaue Einhaltung des gleichen p_H-Wertes geachtet werden muß. Die Anwesenheit von Formaldehyd ist zu vermeiden. Das Halbstufenpotential liegt bei —1,7 bis —1,8 V (gegen die Normalkalomelelektrode).

[1] Ž. anal. Chim. **13**, 354—359 (1958) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Ordžonikidse Inst. Novočerkask (UdSSR). H. Wunderlich

Die papierchromatographische Trennung von Trithionen gelingt nach L. Jirousek[1] im absteigenden Verfahren auf formamid- bzw. petroleumgetränktem [30%ige äthanolische Formamidlösung bzw. 20%ige petrolätherische Petroleumlösung (Petroleumfraktion 190°—210° C)] Whatman-Papier Nr. 1 mit Petroläther bzw. 80%igem Äthanol als Laufmittel. Zur Lokalisierung wird mit einer Mischung (1:1) aus 1%iger Hexacyanoferrat(III)-lösung und 10%iger Eisen(III)-chloridlösung besprüht, anschließend mit verdünnter Salzsäure und mit Wasser gewaschen. Die beiden Laufmittelsysteme ergeben gegenläufige R_f-Folgen (Tabelle im Original). Das petroleumgetränkte Papier eignet sich besonders zur Trennung schwach polarer Trithione.

[1] Naturwissenschaften **45**, 211—212 (1958). Endokrinolog. Forschungsinst. Prag (ČSR). H. Hartkamp

Ein neues Verfahren zur Bestimmung von Mikromengen an Citronensäure beschreibt A. P. Safronov[1]. Die Citronensäure wird bei der Elektrolyse durch anodisch erzeugtes Brom in Pentabromaceton verwandelt, welches mit Pyridin und Alkali eine empfindliche Rotfärbung ergibt (Reaktion von Fujiwara), die photometriert wird. — Zur Aufzeichnung der Eichkurven werden je 4 ml Standardlösungen (10—100 µg Citronensäure), 0,5 ml 20 n Schwefelsäure und 0,4 ml 0,33 n KBr-Lösung, auf 5 ml aufgefüllt, in die Anodenzellen (Glasröhren mit Cellophandiaphragma) eingebracht. Dann taucht man blanke Pb-Elektroden in den Anolyt

und in den aus 1 n Schwefelsäure bestehenden Katholyt ein (bei gleicher Höhe beider Flüssigkeiten) und elektrolysiert 45 min mit Gleichstrom von 0,2 A und 3 V. Nachdem man die Zellen herausgenommen hat, setzt man je 0,5 ml KBr-Lösung (24 g/100 ml) hinzu, ohne die Anoden zu entfernen. Nach 5 min Stehenlassen bindet man das ausgeschiedene Br mit 0,75 ml 0,55 m Sulfosalicylsäurelösung, setzt nach einer weiteren Minute zu den entfärbten Lösungen je 0,1 ml 0,48 n $K_4Fe(CN)_6$-Lösung hinzu und sammelt die leicht gelblichen Lösungen in Stopfenflaschen. Dann spült man die Anodenzellen mit je 3 ml Pyridin in die Standardlösungen, setzt je 8 ml NaOH-Lösung (100 g/150 ml Wasser) hinzu, schüttelt 20—30 sec stark und erhitzt 3 min im Wasserbad auf 80° C. Man nimmt die Lösungen aus dem Bad und kühlt sofort mit Eiswasser. Je 2 ml der trüben roten Pyridinschicht (Blindproben dürfen nur ganz schwach rosa sein), werden mit je 1 Tr. 25%iger NaOH-Lösung und 5 ml eines Gemisches von 4 Vol-Teilen Aceton und 1 Vol-Teil konz. Ammoniak versetzt. Die klare, rote Lösung wird mit Grünfilter (S 53) gegen ein Gemisch von 2 ml reinem Pyridin und 5 ml Aceton-Ammoniak photometriert. Das Bestimmungsverfahren ist für Citronensäure weitgehend selektiv. Viele untersuchte Stoffe können in Mengen bis zu 100 μg zugegen sein, ohne nach durchgeführtem Verfahren eine gefärbte Lösung zu geben. Zu diesen Stoffen gehören unter anderem verschiedene Aminosäuren, Aceton, Acetylcholinjodid, Allanthoin, Alloxan, Acetaldehyd, Guanidin, Inosit, Glycerinphosphorsäure, Lävulinsäure, Maleinsäure, Harnsäure, Nicotinsäure, Harnstoff, Coffein, Xanthin, Kreatin, Brenztraubensäure, Pektin, Essigsäure, Fructose, Furfurol, Formaldehyd, Äthanol, Ascorbinsäure, Bernsteinsäure. Die folgenden Stoffe geben Färbungen, die 10—40 μg oder mehr Citronensäure vortäuschen: Tyrosin, Histidin, Adrenalin, Phenylbrenztraubensäure, Buttersäure, Phenol, Chinasäure, Hydrochinon, Brenzcatechin, Phenylalanin, Tryptophan, Crotonsäure, Acetessigsäure, Malonsäure, β-Hydroxybuttersäure, Äpfelsäure. — Die störenden Stoffe werden bei den Operationen teils entfernt, teils werden die Störungen durch die bedeutende Verdünnung beseitigt. Man kann nach dem angegebenen Verfahren die Citronensäure in Gemüse, Beeren, Früchten, Knochen, Speichel, Milch und in Arzneien selektiv und genügend rasch bestimmen. Gegebenenfalls sind Proteine mit 10%iger Phosphorwolframsäure zu entfernen und abzuzentrifugieren. Tabletten von Citramon und Novomigrophen werden zunächst mit Benzol extrahiert, der Rückstand wird in 1 n Schwefelsäure gelöst, wonach die Bestimmung wie üblich erfolgt.

[1] Ž. anal. Chim. **13**, 360—364 (1958) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Akad. medizin. Wiss. Moskau (UdSSR). A. v. Wilpert

Bei der Untersuchung von zwei fructosehaltigen Disacchariden bemerkte R. W. Bailey[1], daß diese in der Papierchromatographie nicht auf die Sprühmittel Resorcin, Naphthoresorcin und β-Indolylessigsäure ansprachen, wenn statt 2 n Salzsäure Trichloressigsäure verwendet wurde. Das Disaccharid von *Trifolium pratense* bestand nach der Hydrolyse nur aus Fructose, das aus *Streptococcus bovis* aus Glucose und Fructose. Bei der Hydrolyse fiel bereits deren schwere Spaltbarkeit auf. Es wird daher vermutet, daß die Trichloressigsäure bei diesen Zuckern nicht in der Lage ist, die verhältnismäßig stabile glucosidische Bindung zu hydrolysieren.

[1] Nature (London) **181**, 836—837 (1958). Deptm. Sci. Ind. Res., Palmerston North (Neuseeland). B. Rossmann

Zur Bestimmung von Glucose und Maltose verwenden R. T. Bottle und G. A. Gilbert[1] *3,5-Dinitrosalicylat* als Reagens und empfehlen die Durchführung der Reaktion bei Ausschluß von Luft in Stickstoffatmosphäre. — *Arbeitsweise.* Die Lösung des zu untersuchenden Zuckers in 0,28 m Kalilauge wird mit 1 ml Reagenslösung (1,5%ige Lösung von 3,5-Dinitrosalicylsäure in 0,2 m Kalilauge) gemischt,

20 min mit Stickstoff entlüftet und 30 min in einem Wasserbad auf 65° ± 0,1° C erhitzt. (Es kann auch 5 min im kochenden Wasserbad erhitzt werden.) Man kühlt schnell auf Raumtemperatur ab, verdünnt mit Wasser auf 25 ml und mißt die optische Dichte im Spekker-Spektrometer mit 4 cm-Küvetten bei 520 mμ gegen eine gleich temperaturbehandelte Blindprobe. Die Eichkurve verläuft von 0—80 μg Maltose linear.

[1] Analyst **83**, 403—406 (1958). City College Technol., Liverpool und Univ. Birmingham (England). MARGOT ZIMMERMANN

Den Nachweis mehrkerniger Kohlenwasserstoffe und Phenole gründen E. SAWICKI, R. MILLER, T. STANLEY und T. HAUSER[1] auf die Umsetzung mit *Benzal-* oder *Piperonalchlorid* zu Diarylmethanfarbstoffen. Als reaktionsförderndes Lösungsmittel dient Trifluoressigsäure. Die Reaktionsprodukte werden durch ihre Absorptionsspektren im sichtbaren Wellenbereich gekennzeichnet. Es werden die Farben und die Wellenlängen der Absorptionsmaxima von etwa 50 Derivaten angegeben. Die Nachweisempfindlichkeiten liegen im Bereich von 0,008—0,2 μMol in 3 ml Lösung. — *Ausführung. A.* Mit *Benzalchlorid* kann man je nach der verfügbaren Substanzmenge Nachweise verschiedener Empfindlichkeit anwenden. 1. *Geringere Empfindlichkeit.* Man löst 50—5000 μg von der aromatischen Verbindung in 0,5 ml Chloroform, verdünnt mit 5 ml Trifluoressigsäure, fügt 1 Tr. Benzalchlorid und 5 min später 2 Tr. Schwefelsäure hinzu. 2. *Höhere Empfindlichkeit.* In 0,1 ml Chloroform löst man 5—60 μg Analysensubstanz, verdünnt mit 1 ml Trifluoressigsäure, fügt 0,005 ml Benzalchlorid dazu und verdünnt nach 5 min mit Schwefelsäure auf 10 ml. — *B. Nachweis mit Piperonalchlorid.* Man löst 1—60 μg aromatische Substanz in 1 ml Chloroform, gibt etwa 5 ml Trifluoressigsäure und 0,7 ml einer 5%igen Chloroformlösung von Piperonalchlorid hinzu, verdünnt mit Trifluoressigsäure auf 10 ml, schüttelt, bis die Mischung homogen geworden ist, und läßt 5—10 min stehen. — Die nach *A* 1 oder 2 bzw. *B* erhaltenen Lösungen sind ohne weiteres zur Spektrophotometrie geeignet. — Anstelle einer Chloroformlösung von kristallisiertem Piperonalchlorid (aus Piperonal und Phosphor(V)-chlorid gewonnen und aus Pentan umkristallisiert), welche nur etwa 3 Tage haltbar ist, kann man auch äquivalente Mengen von Piperonal und PCl_5 in Chloroform lösen (3 Std haltbar) oder beide Komponenten getrennt auflösen (10 Std haltbar) und kurz vor Gebrauch mischen. — Die Piperonalderivate absorbieren bei höheren Wellenlängen als die analogen Benzalverbindungen. Unter den angegebenen Bedingungen reagiert Benzol nicht mit Piperonalchlorid, Toluol nur wenig, Xylol, Mesitylen, Phenol und Phenoläther dagegen deutlich. Hexaäthylbenzol verhält sich wie zu erwarten aus Mangel an Ringwasserstoff negativ. Bei den monosubstituierten Benzolderivaten verschiebt sich das Absorptionsmaximum in der Reihenfolge H, SH, CH_3, OH, OCH_3, SR nach längeren Wellen. Bei mehrkernigen Aromaten rückt das Absorptionsmaximum der Benzolderivate mit steigender Kernzahl nach längeren Wellen, daneben ist die Stellung etwaiger Substituenten von Einfluß. Elektronegativ substituierte Kohlenwasserstoffe ergeben keine farbigen Reaktionsprodukte. — Die Nachweisreaktionen eignen sich auch zur *Untersuchung der Luftverunreinigung* in Städten.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1130—1133 (1958). U.S. Public Health Service, Cincinnati, Ohio (USA). F. NEUMANN

Zur colorimetrischen Bestimmung von Phenolen vergleicht S. OZAKI[1] 3 bekannte Methoden auf ihre Anwendungsmöglichkeiten. Es handelt sich um das Nitrierungsverfahren sowie um die beiden Methoden, die auf der Farbreaktion mit p-Nitranilin bzw. 4-Aminoantipyrin beruhen. Während sich das erste Verfahren besonders zur Analyse von Phenolgemischen eignet und die Farbreaktion mit

p-Nitranilin einfach durchzuführen ist, hat sich die dritte Methode bei der Bestimmung kleiner Phenolgehalte (unter 2 ppm) in *Wässern* am besten bewährt.

[1] Jap. Analyst **7**, 275—283 (1958) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Kamaishi Works Res., Fuji Iron and Steel Co. (Japan). K. Machner

Für die colorimetrische Bestimmung von Brenzcatechin eignet sich nach J. Strachota und Z. Kotásek[1] die Reaktion mit *Phosphormolybdänsäure* in saurer ungepufferter oder gepufferter Lösung, wobei eine intensiv graublaue Färbung entsteht. Der Reaktionsverlauf ist stark p_H-abhängig, daher müssen die zu untersuchenden Lösungen und die Eichlösungen genau die gleichen p_H-Werte besitzen. *In ungepufferten Lösungen* eignet sich zu den Bestimmungen am besten der p_H-Bereich 3,2—4,0. Unterhalb p_H 2,9 sind die Extinktionsänderungen in Abhängigkeit von der Brenzcatechinkonzentration nur gering, oberhalb p_H 4,5 wächst die Extinktionskurve steil zu extremen Werten an. Jedoch bedeutet auch im geeigneten Bereich eine p_H-Änderung von $\pm$ 0,1 beträchtliche Bestimmungsfehler. Bei einer Brenzcatechinkonzentration von 10—120 μg/ml und einer Reagenskonzentration von 120—240 μg/ml bildet sich der farbige Komplex binnen 1 min nach Reagenszugabe. Die Extinktion bleibt 90 min konstant. Für 5—150 μg Brenzcatechin/ml (240 μg Reagens/ml) besteht lineare Abhängigkeit der Extinktion von der Brenzcatechinkonzentration. Die Abweichungen betragen $\pm$ 1%. Hydrochinon stört die Messung beträchtlich schon bei 10 μg/ml. Resorcin hingegen ist selbst bei einer Konzentration von 120 μg/ml völlig ohne Einfluß. 4-Methylbrenzcatechin und 3-Methylbrenzcatechin reagieren wie Brenzcatechin. — *Zur Colorimetrie in gepufferter Lösung* ist der Phthalatpuffer nach Clark-Lubs brauchbar, während andere Puffersubstanzen Farbänderungen der Molybdänphosphorsäure bewirken. Der optimale p_H-Bereich liegt zwischen 3,4 und 3,8. Zur Bestimmung bzw. zur Gewinnung der Eichkurve pipettiert man daher in einen 25 ml-Meßkolben 13 ml Clark-Lubs-Puffer von p_H 3,8, 5 ml der Standard- bzw. der zu analysierenden Lösung, 1 ml der 1%igen Reagenslösung und füllt mit Wasser zur Marke auf. Man mißt nach 15 min mit Filter von der max. Durchlässigkeit bei 435 mμ. Im Bereich 5—120 μg/ml besteht lineare Abhängigkeit der Extinktion von der Brenzcatechinkonzentration. (Für 3- und 4-Methylbrenzcatechin ist die lineare Abhängigkeit auf 10—100 μg/ml eingeschränkt.) Zur Verbesserung der Reproduzierbarkeit empfiehlt es sich, gleichzeitig mit der Analyse der unbekannten Probe die Messungen für die Aufnahme der Eichkurve durchzuführen. Stets werden auch Reagentienblindwerte gemessen. Die verläßliche und rasch ausführbare Methode ist nach den Erfahrungen der Verff. mit einer maximalen Abweichung von $\pm$ 2% (rel.) (bei Brenzcatechin) behaftet.

[1] Chem. Listy **52**, 1093—1098 (1958) [Tchechisch]. Forsch.-Inst. Lederind. Otrokovice (ČSR). H. Freytag

Die colorimetrische Bestimmung von Benzaldehyd(I) wird von C. Cennamo und C. Parmeggiani[1] auf Grundlage der Nachweisreaktion durch Überführung in die entsprechende Hydroxamsäure vorgenommen. — *Ausführung.* 0,5—4 μMol I je 1,2 ml versetzt man nach Kühlung im Eisschrank mit 0,6 ml einer 3%igen Lösung von Benzolsulfhydroxamsäure in aldehydfreiem Alkohol (durch Destillation mit Kaliumhydroxyd gereinigt) und mit 0,9 ml n Natronlauge. Man beläßt 90 min im Eisschrank. In gleicher Weise bereitet man Blindproben vor. Alle Proben säuert man mit 0,6 ml 2 n Salzsäure an und fügt 0,6 ml 1%ige $FeCl_3 \cdot 6\,H_2O$-Lösung in 0,6 n Salzsäure hinzu. Die sofort auftretende Rotviolettfärbung verblaßt nach einigen Minuten. Deshalb muß die optische Dichte der Lösung sofort nach Zusatz der $FeCl_3$-Lösung bei 515 mμ gegen Wasser ermittelt werden (Beckman-Spektrophotometer DU). Die Blindwerte zieht man von den Werten der I-Lösungen ab. Die

gewonnene Eichkurve besitzt zwar linearen Verlauf, geht aber nicht durch den Koordinatenursprung.

[1] Boll. Soc. ital. Biol. sperim. **34**, 219—221 (1958). Univ. Modena (Italien).

H. Freytag

Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung von Salicylaldehyd (I) arbeiteten C. Cennamo und C. Parmeggiani[1] unter Benutzung des colorimetrischen Verfahrens zur Ermittlung von Aceton nach Csonka[2] aus. Diese beruht auf der Entstehung von Disalicylaceton durch Reaktion von Aceton mit I-Überschuß. — *Ausführung.* Man versetzt 5 ml der Lösungen mit 0,0625—1 μMol I in 50 ml-Scheidetrichtern mit je 2 ml 2 n Salzsäure und 10 ml Toluol und läßt die Toluolschichten sich absetzen. Aliquote 5 ml-Anteile davon werden mit jeweils 10 ml 18%iger Natronlauge ausgeschüttelt. Zu 9 ml der wäßrigen Schichten gibt man 1 ml 20%ige Acetonlösung, erwärmt 20 min lang im Wasserbad auf 50° C, beläßt dann 30 min bei Raumtemperatur und bestimmt die optische Dichte der entwickelten Gelbfärbung mit Filter Nr. 400 (Evelyn-Colorimeter) gegen eine ebenso bereitete Blindlösung. Die Eichkurve zeigt lineare Abhängigkeit der optischen Dichte von der I-Menge und geht durch den Koordinatenursprung.

[1] Boll. Soc. ital. Biol. sperim. **34**, 218—219 (1958). Univ. Modena (Italien). — [2] J. biol. Chemistry **27**, 209 (1916). H. Freytag

Über die chromatographische Trennung einiger Mono- und Tricarbonsäuren der Benzolreihe berichtet J. Franc[1]. Die Untersuchungen beziehen sich auf die *o-, m- und p-Toluylsäuren* und auf die *3 isomeren Benzoltricarbonsäuren (Hemimellithsäure, Trimesinsäure, Trimellithsäure).* In keiner der beiden Gruppen von Isomeren sind Trennungen durch direkte Chromatographie möglich, da die R_f-Werte in jeder Gruppe untereinander nahezu gleich sind, was der Verf. bei den Toluylsäuren durch die fast übereinstimmenden Dipolmomente, bei den Tricarbonsäuren dadurch erklärt, daß die Unterschiede in den Dipolmomenten durch die verschiedenen Zahlen der inneren Wasserstoffbrücken ausgeglichen werden. Ebenso wie bei den früher[2] untersuchten Mono- und Dicarbonsäuren erreicht man auch hier durch Nitrieren der Stoffe bessere Trennungsmöglichkeiten. Verf. empfiehlt 3 Arten der Nitrierung (siehe unten). Methode a) reicht hin bei Gemischen der m- und p-Toluylsäuren, da die entstehenden Produkte (2,- 6-Nitro-m-toluylsäure, 2,5-Dinitro-m-toluylsäure, 3-Nitro-p-toluylsäure, 3,5- und 2,5-Dinitro-p-toluylsäure) glatt voneinander zu trennen und dann zu identifizieren sind. Enthält das Gemisch dagegen auch die o-Verbindung, so sind die Trennungen unvollständig. Man nitriert in diesen Fällen nach b) und c) weiter, wobei aus p-Toluylsäure 2,3,6-Trinitro-p-toluylsäure entsteht, die einen intensiv blau fluorescierenden Fleck von kleinem R_f-Wert gibt. Aus der o-Säure bildet sich 3,5,6,-Trinitro-o-toluylsäure (grüner Fleck mit größerem R_f-Wert). Die m-Säure bildet verschiedene Di- und Trinitroprodukte. Die Trimesinsäure läßt sich nicht nitrieren, sie ist daher auf diesem Wege nicht zu identifizieren. Aus Hemimellithsäure erhält man nur 5-Nitrohemimellithsäure (R_f = 0,21) und aus Trimellithsäure 5-Nitro-trimellithsäure (R_f = 0,14). — *Ausführung.* a) Man nitriert etwa 0,1 g Säure mit 3 ml Nitriergemisch (2 Tr. konz. Schwefelsäure + 1 Tr. rauchende Salpetersäure) bei 80° C 15 min lang. b) Man verfährt wie unter a) angeführt, aber bei 100° C und 4 Std lang. c) Wie vor, Dauer der Nitrierung jedoch 7 Std. In allen Fällen kühlt man das Reaktionsgemisch ab, verdünnt auf 5 ml mit Wasser und neutralisiert mit 3 ml Pyridin. So gewonnene Nitrosäuregemische werden direkt chromatographiert. Man benutzt Whatmanpapier Nr. 1, trägt Mengen von 5—10 μg auf und entwickelt absteigend mit den Gemischen: I. n-Butanol-Pyridin-Wasser (5:3:3) und II. Isoamylalkohol-Äthanol-Pyridin-Wasser (1:1:1:1). Die Laufstrecke beträgt etwa 27 cm binnen 5 Std. Das Sichtbarmachen erfolgt durch

Reduktion der Nitrogruppen mit Zinn (II)-chlorid und Besprühen mit EHRLICHS Reagens, wie für nitrierte Dicarbonsäuren angegeben worden ist[2].

[1] Chem. Listy **52**, 1108—1112 (1958) [Tschechisch]. Forsch.-Inst. organ. Synthesen, Pardubice-Rybitví (ČSR). — [2] FRANC, J.: Chem. Listy **51**, 2041 (1957).
H. FREYTAG

Die colorimetrische Bestimmung von D-Catechin führen K. KIMURA, Y. SATOMI und S. KUWANO[1] mit einem *Vanillin-Salzsäure-Reagens* aus (2 Teile 10%ige methanolische Vanillinlösung + 1 Teil 35%ige Salzsäure [D 1,18—1,19]). D-Catechin und Gambir-Tannin trennen Verff. mittels Papierchromatographie, eluieren ersteres mit Methanol und führen dann die Reaktion aus, deren Farbstärke photometrisch bei der Wellenlänge 500 mμ ausgemessen wird. Sowohl D-Catechin als auch optische Isomere konnten auf diese Weise bestimmt werden.

[1] J. pharmac. Soc. Japan **78**, 325—329 (1958) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Univ. Osaka (Japan). B. ROSSMANN

Die Bestimmung von Benzochinon in Maleinsäurelösungen durch potentiometrische Titration führen A. I. MALYŠEV und I. I. IOFFE[1] durch, indem sie das bei der Reaktion von Chinon mit Kaliumjodid freiwerdende Jod potentiometrisch mit Natriumthiosulfat titrieren. (Man versetzt z. B. 20 ml 40%iger Maleinsäurelösung mit 10 ml 10%iger KJ-Lösung.) Dabei entspricht 1 ml 0,1 n Natriumthiosulfatlösung 0,0054 g Benzochinon. Die Bestimmung von 0,0005 Mol Benzochinon läßt sich noch mit einem mittleren Fehler von 3% durchführen. Anwesenheit von Formaldehyd stört nicht. Die direkte Titration des Benzochinons mit Thiosulfatlösung läßt sich wegen der langsamen Gleichgewichtseinstellung analytisch nicht verwenden.

[1] Ž. anal. Chim. **13**, 374—375 (1958) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Vorošilov-Inst., Moskau (UdSSR). H. WUNDERLICH

Einen papierchromatographischen Nachweis für Chinasäure, bei dem *Hydroxylphenyl-benzo-γ-pyrone*, insbesondere das *3,5,7,2',4'-Pentahydroxyderivat*, als Reagens angewendet werden, gibt R. NEU[1] an. Die Flavonolkonzentration beträgt 0,25% in Methanol; für Tüpfelteste und für die Papierchromatographie wird Filtrierpapier von Schl. & Sch. Nr. 2045b empfohlen. — Bei der Verwendung des Lösungsmittelgemisches Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5 bzw. 6:1:2) bildet sich bei dem R_f-Wert für Chinasäure ($R_f \times 100 = 18{,}6$ bzw. 19) ein im Tageslicht rotviolett und im UV-Licht rot erscheinender Fleck. Mit dem Gemisch Butanol-Ameisensäure-Wasser (6:1:2) bzw. Butanol-Äthanol-Wasser (40:11:19) erhält man einen weißen Fleck, der im UV-Licht blauviolett erscheint (R_f-Wert $\times 100 - 19{,}9$ bzw. 15,9). Andere Polyhydroxycarbonsäuren verhalten sich zwar ähnlich, unterscheiden sich jedoch deutlich von der Chinasäure durch einen anderen R_f-Wert.

[1] Naturwissenschaften **45**, 286 (1958). W. Schwabe GmbH, Karlsruhe-Durlach. B. SCHÜHLEIN

IV. Spezielle analytische Methoden

1. Analyse von Lebensmitteln

Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung der Peroxydzahl von Speisefetten beschreiben P. A. T. SWOBODA und C. H. LEA[1]. Dabei wird die Probe mit Kaliumjodid umgesetzt und das ausgeschiedene Jod entweder direkt (als Trijodid durch Absorptionsmessung im UV) oder nach Reaktion mit Stärke (als komplexe Jod-Stärkeverbindung) photometriert. — *Arbeitsweise.* Je nach der zu erwartenden

Peroxydzahl werden 1—50 mg der Fettprobe in ein Reagensglas eingebracht und in 3 ml eines Gemisches aus Essigsäure und Chloroform (3:2) gelöst. Zur Entlüftung leitet man einige Zeit mit Lösungsmitteldämpfen gesättigtes Kohlendioxyd durch die Probelösung (dazu wird eine Capillare verwendet, die über eine Gaswaschflasche an ein Druckreduktionsventil und den Gaszylinder angeschlossen ist), gibt dann 0,08 ml frisch bereitetes Jodreagens zu (1,2 g Kaliumjodid/ml Wasser) und läßt das Reaktionsgemisch bei geschlossenem Auslaßventil unter leichtem CO_2-Überdruck 1 Std im Dunkeln stehen (wenn die Fettprobe nicht zu stark oxydiert ist, kann die Reaktionszeit entsprechend abgekürzt werden). Anschließend versetzt man mit 7 ml 0,5%iger wäßriger Cadmiumacetatlösung (dadurch wird das überschüssige Jodid in eine komplexe Cadmiumjodidverbindung übergeführt, die gegenüber Luftsauerstoff weniger empfindlich ist), verschließt das Reagensglas mit einem Glasstopfen, schüttelt kräftig 15 sec, zentrifugiert und mißt die Extinktion der überstehenden wäßrigen Phase bei 350 mμ unter Verwendung von 1 cm-Küvetten. Soll das ausgeschiedene Jod als komplexe Jod-Stärkeverbindung bestimmt werden, versetzt man das Reaktionsgemisch mit 6 ml der wäßrigen Cadmiumacetatlösung und 1 ml einer 10%igen wäßrigen Stärke-Harnstofflösung (zur Herstellung der Lösung wird ein Gemisch aus 5% Stärke in Harnstoff verwendet), schüttelt, zentrifugiert und mißt die Extinktion der erhaltenen Farblösung bei 550 mμ. Blindversuche werden entsprechend durchgeführt. An Hand von Eichkurven wird ausgewertet. Die Kurven folgen dem Beerschen Gesetz. Zum Aufstellen der Eichkurven werden geeignete Volumina (bis zu 2 ml) einer 0,2 mn KJO_4-Lösung in 0,5%iger Cadmiumacetatlösung an Stelle einer gleichen Menge der Cadmiumacetatlösung eingesetzt. Die nach beiden Verfahren ermittelten Peroxydwerte zeigen gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Vergleichsanalysen, die maßanalytisch[2] durchgeführt worden sind.

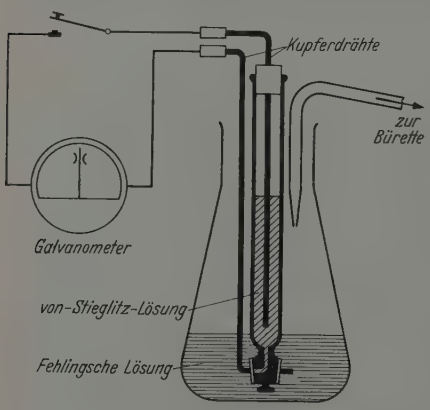


Abb. 1. Apparatur zur elektrometrischen Zuckerbestimmung nach Chubb und Hartley

[1] Chem. and Ind. **1958**, 1090—1091. Univ. Cambridge and Dep. Sci. Ind. Res. (England). — [2] Lea, C. H.: J. Sci. Food Agric. **3**, 586 (1952).

K. Machner

Eine Modifikation der elektrometrischen Bestimmungsmethode von Zuckern nach C. R. von Stieglitz[1] beschreiben L. W. Chubb und A. W. Hartley[2]. An Stelle einer Spezialelektrode mit einem Ende aus porösem Gips verwenden sie den äußeren Teil einer Cambridge p_H-Bezugselektrode, die mittels einer Mattglashülse den elektrischen Kontakt zwischen dem inneren und äußeren Teil der Elektrode ermöglicht. Bei dem Apparat (Abb. 1) sollen die Kupferdrähte von derselben Rolle eines 1 mm dicken, reinen Kupferdrahtes stammen. Sie müssen mit feiner Schmirgelleinwand reingehalten werden. Das verwendete Nullpunktsgalvanometer hat eine Empfindlichkeit von etwa 2 μA je Teilstrich. Zur Herstellung der v. Stieglitzlösung zum Füllen der Elektrode mischt man 5 ml Fehlingsche Lösung II (Alkalitartrat), 5 ml einer 3,94%igen, wäßrigen Lösung von wasserfreiem Natriumsulfat

und 20 ml Wasser. Die Lösung eignet sich für Titer zwischen 15 und 30 ml; für Titer zwischen 30 und 50 ml verwendet man 40 ml Wasser. Titriert wird durch portionsweise Zugabe der Zuckerlösung zu einer gemischten Fehling-Lösung. Der Endpunkt der Titration ist erreicht, wenn der Galvanometerausschlag gleich 0 ist.

[1] Proc. Queensland Soc. Sugar Cane Technologists, Conf. **1936**, 101; **1938**, 29; **1939**, 43. — [2] Analyst **83**, 311—312 (1958). Spillers Central Lab., Cambridge (England). R. Fresenius

Über die Bestimmung von Calcium in Zuckerprodukten mit ÄDTA berichten N. A. Ramaiah, Vishnu und R. K. Chaturvedi[1]. Die Zuckerlösungen werden in der üblichen Weise mit trockenem Bleisubacetat versetzt und filtriert. Der Bleiüberschuß wird durch die Zugabe geringer Mengen Kaliumhexacyanoferrat(II)-lösung gefällt. Nach Zusatz von 1 oder 2 Tr. konz. Salpetersäure und Filtration wird in einem aliquoten Teil Calcium mit ÄDTA nach A oder B bestimmt. — *Methode A.* Die Titration erfolgt spektralphotometrisch. Zur Endpunktserkennung wird eine entsprechende Menge Kupfersulfatlösung und Ammoniaklösung zugesetzt und die Absorption bei 630 mμ gemessen. Der Endpunkt wird graphisch ermittelt und ist erreicht, wenn die optische Dichte absinkt. *Methode B.* Zur Probelösung werden etwa 0,001 g Murexid und 4—6 Tr. Ammoniaklösung zugegeben und bis zum Umschlag von Rot nach Purpur titriert. — Die Dauer der Analyse beträgt etwa 20 min, und der Fehler übersteigt nicht $\pm$ 1%. Beleganalysen zeigen die Anwendbarkeit der Verfahren. Nähere Einzelheiten sollen zu einem späteren Zeitpunkt veröffentlicht werden.

[1] Naturwissenschaften **45**, 290—291 (1958). Nat. Sugar Inst., Kanpur (Indien). H. Zimmer

Bei der Bestimmung von Kupfer in Thunfisch werden nach H. Zeitlin, M. M. Frodyma und G. Ikeda[1] völlig abweichende und unkontrollierbare Ergebnisse erhalten, wenn zum Veraschen der Probe Porzellantiegel verwendet werden. Die Asche zeigt dann eine mehr oder weniger blaue Anfärbung, und die erhaltenen Kupferwerte liegen im Durchschnitt wesentlich höher als erwartet. Es wird vermutet, daß beim Veraschen Kupferbestandteile aus der Tiegelglasur herausgelöst werden (die Asche wirkt wie eine alkalische Schmelze), was durch umfangreiche Kontrollversuche bestätigt werden konnte. Verff. empfehlen daher für die Kupferbestimmung in Thunfisch die nasse Veraschung der Probe. — *Arbeitsweise.* 15 bis 50 g der fein zerkleinerten Fischprobe werden in einem Vakuumofen bei 100° C und einem Druck von 100 mm Quecksilbersäule bis zur Gewichtskonstanz getrocknet (5 Std) und anschließend nach dem von E. B. Sandell[2] angegebenen Verfahren mit einem Gemisch aus Perchlorsäure und Salpetersäure verascht. In einem aliquoten Teil der erhaltenen farblosen Lösung (entsprechend etwa 4 g Trockenrückstand) wird dann das Kupfer nach der von K. L. Cheng und R. H. Bray[3] beschriebenen Methode colorimetrisch bestimmt. Es werden gut reproduzierbare Werte erhalten. — Für die Kupferbestimmung nach der offiziellen AOAC-Methode[4] sollten zum Veraschen der Probe möglichst Quarz- oder Platintiegel verwendet werden.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1284—1286 (1958). Univ. Honolulu, Hawaii. — [2] Colorimetric Determination of Traces of Metals, 2nd edit., S. 320, Interscience, New York, 1950. — [3] Analyt. Chemistry **25**, 655 (1953); vgl. diese Z. **141**, 297 (1954). — [4] Assoc. off. agric. Chemists, Official and Tentative Methods of Analysis, 6th edit., S. 122, 1945. K. Machner

Vitamine. *Photonephelometrische Bestimmung von Vitamin B_1 (Thiamin).* V. N. Bernštein[1] gründet die Bestimmung auf die Fällungsreaktion mit *Natriumphosphorwolframat*; die dabei entstehende Trübung wird im Nephelometer gemessen. Der

Bestimmungsfehler übersteigt nicht 5%. Die kleinste bestimmbare Menge beträgt 2,5 μg Chlorhydrat in 1 ml Reaktionsgemisch. — Zur Aufstellung der Eichkurven wird eine 5%ige Lösung von Thiaminhydrochlorid 100fach verdünnt. Davon werden 0,2—0,5—0,7—1,0—1,5 ml in Kölbchen von 50 ml Inhalt gegeben, mit Wasser fast bis zur Marke verdünnt, dann mit je 1 ml 0,01 m Natriumphosphorwolframatlösung gefällt, zur Marke aufgefüllt und nach 5 min nephelometriert. Nach demselben Verfahren kann Thiaminhydrochlorid in 5%iger Injektionslösung bestimmt werden. Bei der Bestimmung des Thiamins in Dragees und Arzneigemischen werden die Vitamine A_1, B_2, C, D und P vom Reagens nicht gefällt. Man zerreibt die Dragees zu Pulver, löst davon 2 Einwaagen (je 0,5 g) in je 50 ml Wasser, entnimmt davon 2—12,5 ml, die man wiederum auf 50 ml verdünnt, und verfährt weiter wie mit der 5%igen Injektionslösung. In Arzneigemischen stört nur Pyramidon die Bestimmung; man extrahiert es 3—4 mal mit je 5 ml $CHCl_3$ und bestimmt das Thiamin im Rückstand (Thiamin + Ascorbinsäure), den man in Wasser löst und weiter wie oben verfährt.

[1] Ž. anal. Chim. **13**, 365—367 (1958) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.). Pharmazeut. Inst., Pjatigorsk (UdSSR). A. v. Wilpert

Über spektrophotometrische Untersuchungen der unter der Einwirkung von schwefliger Säure gebildeten Spaltprodukte des Thiamins berichten W. Lhoest, C. A. Baumann und L. W. Busse[1]. Das eine Spaltprodukt, die *2-Methyl-4-aminopyrimidyl-5-methylensulfonsäure* besitzt 2 isosbestische Punkte bei 2394 und 2762 Å. Die Spaltprodukte zeigen in alkalischem Milieu große Stabilität, wie aus der Unveränderlichkeit der Absorptionskurve bei längerem Stehen geschlossen werden kann. Dagegen verändert sich die UV-Absorptionskurve einer Thiaminlösung bei p_H 12 sehr stark. Für die Instabilität wird der quartäre Stickstoff des Thiazolrings verantwortlich gemacht[2].

[1] J. Pharmac. Belgique, N. S., **12**, 519—528 (1957). Fallais (Belgien) und Univ. Madison, Wis. (USA). — [2] Frühere Mitt. W. Lhoest: J. Pharmac. Belgique N. S. **11**, 495 (1956); vgl. diese **Z. 158**, 314 (1957). L. Acker

Über die Trennung der Cobalamine an Ionenaustauschersäulen hat K. H. Menke[1] Untersuchungen angestellt und gefunden, daß eine Adsorption von Vitamin B_{12} an sauren Harzen nicht eintritt in Gegenwart von Anionen, so daß eine Elution mit Pufferlösungen nicht zum Ziele führt. Behandelt man aber die sauren Harze mit Ammoniumchloridlösungen von bestimmtem p_H-Wert und eluiert anschließend die Chlorionen rasch mit Wasser, so enthält das Harz Wasserstoff- und Ammoniumionen in bestimmtem Verhältnis und ist nun zum Austausch mit den Cobalaminen vorbereitet. Zur Elution genügt dann Wasser. Die Wanderungsgeschwindigkeit ist direkt abhängig von der Ammoniumionenkonzentration. Aus den *Faeces von Hühnern* ließen sich 10 Cobalamine trennen. Nähere Angaben sollen später folgen.

[1] Naturwissenschaften **45**, 263 (1958). Univ. Bonn. L. Acker

Chromatographisches Verhalten der wäßrigen Lösungen der Ascorbinsäure. M. Miletti und A. P. Murroni[1] untersuchen die experimentelle Technik bezüglich der chromatographischen Trennung der Ascorbinsäure und einiger ihrer Oxydationsprodukte zur Aufstellung einer exakten Versuchsmethodik. Außer 2 neuen Methoden für die Auffindung der Flecken der Ascorbinsäure werden die mit einigen Oxydationsprodukten erhaltenen chromatographischen Ergebnisse beschrieben. Erwärmung auf 105° C verändert die wäßrigen Lösungen der Ascorbinsäure nicht, aber einige Tage nach ihrer Herstellung oder durch Berührung mit der Cellulose des Papiers tritt Zersetzung ein. Da die mittleren R_f-Werte der Ascorbinsäure stark

schwanken, wird empfohlen frisch bereitetete Lösungen und eine Phase konstanter Zusammensetzung, — vorgeschlagen wird z. B. „Phase B", eine Mischung von 40 ml Butanol, 10 ml Essigsäure und 24,7 ml Wasser — zu benutzen und stets eine Kontrollchromatographie durchzuführen. In Methanollösung treten durch Oxydation Flecken auf, die durch den beständigen, von PECHERER[2] gefundenen Komplex $C_6H_6O_6 \cdot CH_3OH$ bedingt sein dürften. Weitere Versuche beweisen, daß es in den Chromatogrammen der wäßrigen Lösungen der Ascorbinsäure, die verschiedenartigen oyxdativen Behandlungen unterworfen waren, niemals gelungen ist, eindeutig die Gegenwart von Dehydroascorbinsäure festzustellen, daß in den Chromatogrammen immer der Flecken der Diketogulonsäure vorliegt, daß nur die einer gelinden Oxydation mit Norit unterworfenen Lösungen oder die Methanollösungen, die zur Herstellung von Dehydroascorbinsäure dienen, oder ihre äthylalkoholischen Lösungen die charakteristischen Flecken dieser Säure zeigen und daß eine energischere Oxydation der Ascorbinsäure nicht den Flecken der Dehydroascorbinsäure, sondern einzig die Gegenwart der Diketogulonsäure zeigt. Es erweist sich praktisch unmöglich, aus Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure enthaltenden Gemischen diese vollständig durch Chromatographie zu trennen. Die Trennung wird jedoch nach Ansicht der Verff. auf die Flecken der Diketogulonsäure gegründet werden können, die das natürliche Oxydationsprodukt der Dehydroascorbinsäure ist und hinreichend beständig und leichter zu erhalten ist. Wegen der experimentellen Einzelheiten muß auf die ausführliche Originalarbeit verwiesen werden.

[1] Sperimentale, Sez. chim. biol., **6**, 72—96 (1956). Univ. Cagliari (Italien). — [2] J. Amer. chem. Soc. **73**, 3827 (1933). E. FÖRSTER

Eine empfindliche und stabile Farbreaktion zur Bestimmung von Vitamin K_1 geben K. SCHILLING und H. DAM[1] an. Die von F. IRREVERRE und M. X. SULLIVAN[2] beschriebene Reaktion mit Diäthyldithiocarbaminat führt zu einer sehr instabilen Färbung. Dagegen erhält man bei Verwendung von *5-Imino-3-thion-1,2,4-dithiazolidin (Xanthanwasserstoff)* eine Färbung von größerer Stabilität. — *Arbeitsvorschrift.* 3 ml der in Äthanol gelösten Probe werden mit 1 ml Xanthanwasserstofflösung (80%ige gesättigte Lösung in Äthanol, hergestellt durch Schütteln eines Überschusses an umkristallisiertem Xanthanwasserstoff in Alkohol, dann Filtrieren und Zufügen von $^1/_4$ des Volumens an Äthanol) und 1 ml 1 n Kalilauge versetzt. Die Mischung wird 10 min lang in ein Wasserbad von 50° C gestellt und sofort anschließend im fließenden Wasser gekühlt. Die Absorption wird bei 410 mμ gegen eine in gleicher Weise mitgeführte Blindlösung gemessen. Der Vitamingehalt wird dann einer Eichkurve entnommen. Das Beersche Gesetz ist bis zu 100 μg/ml erfüllt. Die Absorption ist doppelt so groß wie die mit Diäthyldithiocarbaminat erhaltene. Das Reagens ist monatelang haltbar.

[1] Acta chem. scand. **12**, 347—348 (1958). Polytechn. Inst., Kopenhagen (Dänemark). — [2] Science **94**, 497 (1941). L. ACKER

Insecticidrückstände auf Obst und Gemüsen lassen sich analytisch-chemisch in einer für die Praxis geeigneten Weise nicht erfassen. Darum hat W. WEINMANN[1] eine biologische Methode mit dem Drosophila-Test ausgearbeitet, die innerhalb 6 Std einen quantitativen Rückstandsnachweis bis zu 0,06 mg/kg gestattet. An *Rotkohl, Weißkohl, Wirsingkohl, Spinat, Salat, Mohrrüben, Äpfeln, Birnen, Pflaumen, Kirschen, Pfirsichen, Stachelbeeren und Apfelsinen* ist das Verfahren anwendbar. Es kommt für die Insecticide *E 605, Malathion, Basudin, Hexachlorcyclohexan, DDT, Metasystox, Aldrin, Nicotin, Dieldrin* und *Heptachlor* in Frage. Zur Untersuchung auf die erwähnten Insecticide müssen nicht nur die Oberflächen, sondern alle Organteile kommen, die dem Verzehr dienen, da einige der Mittel schnell in

das Innere eindringen und auf der Oberfläche nicht mehr auffindbar sind. — *Arbeitsweise.* Von dem zu untersuchenden Material wird eine Probe von 4—5 kg genommen, aus der im Laboratorium 1 kg wahllos entnommen wird und z. B. im Starmix mit gleicher Gewichtsmenge Wasser homogenisiert wird. Hiervon werden 400 g ausgewogen und je drei Ansätze durchgeführt. Aus dem wäßrigen Homogenat wird mittels Tüchern ein Preßsaft mit der Hand abgepreßt. Preßsaft und Rückstand werden getrennt mit Petroleumbenzin (Siedebereich 50—75° C) im Zerkleinerer kalt extrahiert. Der Rückstand wird auf einer Nutsche abgesaugt. Der Preßsaft wird im Starmix mit 5 ml Butanol und 100 ml Petroleumbenzin 2 sec mit halber Tourenzahl extrahiert. Dann läßt man ihn in einem Becherglas etwa 1 Std bis zur Entmischung stehen. Die wäßrige Phase wird mit einem Glasrohr von oben abgesaugt. Die beiden Auszüge werden vereinigt und mit Natriumsulfat getrocknet. Das Benzin läßt man über Nacht verdunsten. Der Rückstand wird mit Seesand gemischt und mit Acetonitril extrahiert. (Zu 3,5 g Seesand werden noch 2,5 g Natriumsulfat gegeben). Es wird in 6 Anteilen mit Acetonitril bis zum Endvolumen von 10 ml ausgezogen. Die filtrierten Extrakte werden im zylindrischen Scheidetrichter mit 20 ml Wasser verdünnt und zweimal mit 25 ml Benzin ausgeschüttelt. Die Benzinextrakte werden in beide Hälften der Testschale (Petri-Schale) ausgegossen. Mittels Föhn wird dann das Benzin verjagt. An den Deckel der Petri-Schalen gibt man ein kleines Stück Nährboden und setzt 50 Tiere zum Test an. Dieser wird zweckmäßig im Thermostaten mit Glasdach wegen der positiv phototropen Drosophila bei 28° C durchgeführt. Nach 11 min beginnend werden in geometrischer Progression bis 6 Std 18 min die abgestorbenen Tiere ausgezählt. Der Zeitwert (t 50) für die 50% Sterblichkeit dient als Kennzeichen der Wirkstoffmenge. Die Zucht der Drosophila ist beschrieben. Mit den Tieren sind Standardwerte zu ermitteln. Die Arbeitsgeräte bedürfen besonderer Reinigung, da Spuren der Insecticide noch wirksam sein können.

[1] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **107**, 504—510 (1958) Bundesanst. Qualitätsforschg. pflanzl. Erzeugn. Geisenheim (Rhg.). B. Rossmann

4. Analyse von biologischem Material

Eichung der Warburg-Gefäße. An Stelle der Eichung mit Quecksilber schlagen J. D. Ross und G. E. Gifford[1] eine manometrische Eichung vor, bei der allerdings das Volumen eines Troges bekannt sein muß. Das Volumen des unbekannten Troges wird nach der Formel des Boyleschen Gesetzes

$$V_2 = \left[\frac{h_1}{h_2} \cdot \frac{x_2}{x_1}(V_1 - x_1)\right] + x_2$$

berechnet. (h_1 und h_2 sind die den Volumänderungen x_1 und x_2 entsprechenden Änderungen des am Manometer abgelesenen Druckes.) Zum Nachweis der Brauchbarkeit der Methode werden Gefäßkonstanten K_{o_2} verglichen, die einerseits mit der Quecksilber- und andererseits mit der Manometermethode ermittelt worden sind. (Wesentlich einfacher ist die Volumenbestimmung nach der Formel $v = a \frac{h_2}{h_2 - h_1}$; vgl. Bertho-Grassmann, Biochemisches Praktikum; d. Ref.)

[1] J. Lab. clin. Med. **49**, 802—804 (1957). Dept. Bacteriol. Immunol., Univ. Minneapolis, Minn. (USA). B. Rossmann

Zur Kontrolle der Elektrophorese in Agargel bei der Durchführung der von C. A. Williams und P. Grabar[1] entwickelten *Immunoelektrophorese des Serums*

empfiehlt CH. WUNDERLY[2] ein Verfahren, bei welchem der Fortgang der Elektrophorese mit Hilfe zweier Indicatoren (35%ige Dextranlösung mit Bromphenolblau bzw. o-Nitranilin) sichtbar gemacht wird.

[1] Biochem. biophysica Acta (Amsterdam), **10**, 193 (1953); **17**, 67 (1955); vgl. diese Z. **153**, 395 (1956). — [2] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **3**, 298—299 (1958). Med. Univ.-Klinik, Zürich (Schweiz). K. MACHNER

Zur Natriumbestimmung im Serum bei Routine-Untersuchungen schlägt R. F. L. MARUNA[1] die Fällung als Natriummagnesiumuranylacetat vor, dessen Menge durch Farbmessung seiner Natriumcarbonatlösung festgestellt wird. Im Bereich von 8—80 mg-% folgt die Färbung dem Lambert-Beerschen Gesetz. — *Ausführung.* 0,5 ml nicht hämolytisches Serum werden mit 0,5 ml 20%iger Trichloressigsäure versetzt und 5 min in ein auf 60—70° C erwärmtes Wasserbad gebracht. Nach 5 min Stehen bei Zimmertemperatur wird die Lösung kurz zentrifugiert und filtriert. 0,2 ml Filtrat werden mit 1 ml Uranylacetatlösung (7,0 g Uranylacetat + 6,0 g Eisessig mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt) und 10 ml Magnesiumacetatlösung (2,5 g Magnesiumacetat + 3,0 g Eisessig mit 95%igem Äthylalkohol auf 100 ml aufgefüllt) versetzt und 2 Std bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die Lösung wird mit 3000 U/min 10 min zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit abgegossen. Der Niederschlag wird dreimal mit je 3 ml absolutem Alkohol gewaschen. Nachdem man auch die dritte Waschflüssigkeit nach dem Zentrifugieren entfernt hat, trocknet man den Rückstand 15 min bei 60° C, löst ihn dann in 5 ml 2,5%iger Natriumcarbonatlösung und mißt die Absorption bei 420 mμ gegen einen Blindansatz. Die Erfassungsgrenze liegt bei 1,6 μg Na/ml Colorimeterlösung.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **2**, 581—585 (1957). Eijkman-Inst., Zentral-Lab., Gesundheitsministerium Djakarta (Indonesien). H. ZIMMER

Calcium. *Die flammenspektrophotometrische Bestimmung von Calcium in biologischen Flüssigkeiten und eine Isotopenanalyse zum Nachweis der Fehler im Kramer-Tisdall-Verfahren* wird von I. MACINTYRE[1] beschrieben. Das Kramer-Tisdall-Verfahren wurde mit Hilfe von ^{45}Ca beobachtet und der Niederschlag auf Mg und Phosphat geprüft. Es traten 0,8—2,0% Ca-Verluste durch vollständige Fällung und 2,0—8,9% Ca-Verluste durch Herauslösen beim Auswaschen auf. Diese wurden manchmal durch verschieden starke Mg-Mitfällung von 0—11% wieder kompensiert. — Das vom Verf. empfohlene flammenspektrophotometrische Verfahren scheidet die Störung durch Na weitgehend durch Messung der Emission bei 423 mμ aus. Die verbleibende durch Na und K bewirkte Erhöhung der Emission wird durch Zugabe geeigneter Mengen NaCl und KCl zur Vergleichslösung beseitigt. Phosphat erniedrigt die Emission. Das Maximum ist bei einem Verhältnis P:Ca = 1:1,25 erreicht und bleibt bei steigender P-Konzentration konstant. Man braucht die zu messende Flüssigkeit deshalb nur mit genügend Phosphatlösung zu verdünnen. — *Durchführung der flammenphotometrischen Bestimmung.* Man stellt sich eine gemischte Salzsäurelösung, 0,03 m an KCl, 0,005 m an K_2SO_4, 1,4 m an NaCl und 0,05 m an KH_2PO_4 her und vermischt für die Vergleichslösungen 10 ml dieser Lösung mit 10 ml 0,008 m $MgCl_2$-Lösung, verdünnt auf 700 ml, versetzt mit 50 ml 60%iger Perchlorsäure und füllt auf 1 l auf. Mit dieser Lösung füllt man Anteile einer 0,025 m $CaCl_2$-Lösung so auf, daß die Ca-Konzentrationen zwischen 0,05 und 0,5 mmol liegen. — Die Plasmalösung behandelt man vor der Messung zur Eiweißbeseitigung mit 9 Vol. Phosphat-Perchloratlösung/1 Vol. Plasmalösung, zentrifugiert und verwendet die überstehende Flüssigkeit. Die Phosphat-Perchloratlösung gewinnt man aus 10 ml 0,0444 m KH_2PO_4-Lösung, die man auf 700 ml verdünnt,

mit 55,5 ml 60%iger Perchlorsäure vermischt und auf 1 l auffüllt. Die Messung geschieht bei 423 mμ in einem Flammenspektrophotometer mit Acetylenflamme.

[1] Biochemic. J. 67, 164—172 (1957). Postgraduate Med. School, London (England). HILDEGARD PLUSKAL

Eine Mikromethode zur colorimetrischen Bestimmung von Calcium in Serum beschreibt S. BAAR[1]. Als Farbreagens wird „Echtrotsalz B" (das Natriumsulfonat eines Oxyaminoderivates der Anthrachinonreihe) verwendet, das mit Calcium in alkalischer Lösung unter Bildung einer bläulichen Farbverbindung mit dem Absorptionsmaximum bei 578—580 mμ reagiert. Serumeisen, Hämoglobin, Bilirubin und Heparin stören die Farbreaktion nicht. — *Ausführung.* 2 ml der verdünnten Reagenslösung (siehe unten) werden mit 0,5 ml dest. Wasser und 0,1 ml der Serumprobe versetzt. Man läßt das Reaktionsgemisch 30 min bei Raumtemperatur stehen und mißt dann die Extinktion der erhaltenen Farbsalzlösung bei 580 mμ unter Verwendung von 1 cm-Küvetten. Ein Blindversuch wird entsprechend durchgeführt (die Blindlösung enthält 1 ml einer Magnesiumsulfatlösung [2 mg Mg/100 ml] an Stelle der Serumprobe). An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Bis zu einem Calciumgehalt von 16 mg-% folgt die Kurve dem Beerschen Gesetz. Beleganalysen zeigen gute Übereinstimmung mit den erwarteten Werten. — *Reagenslösung.* Eine gesätt. wäßrige Lösung von „Echtrotsalz B" wird filtriert und in einer dunklen Flasche aufbewahrt. Vor Gebrauch werden 8 ml dieser Lösung in einem 50 ml-Meßkolben mit 5 ml 1 n Natronlauge versetzt und mit dest. Wasser zur Marke aufgefüllt.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) 2, 567—575 (1957). Med. Res. Council Ind. Injuries & Burns Res. Unit, und Accident Hosp., Birmingham (England). K. MACHNER

Als Indicator für die komplexometrische Bestimmung von Calcium in Serum wird von H. FLASCHKA, A. A. ABD EL RAHEEM und F. SADEK[1] *Eriochromblau SE* (Geigy, Basel), kurz Erio SE genannt, vorgeschlagen. Der Farbstoff ist auch in alkalischer Lösung genügend lange beständig. Durch Schwermetallspuren wird er verhältnismäßig wenig beeinflußt. Besonders in verdünnten Lösungen empfiehlt es sich, Naphtholgrün B zuzugeben, man erhält dann einen scharfen Umschlag von Rot nach Blau. Die Titration kann in 3 min durchgeführt werden, die Fehler betragen 0,2—0,3 mg-%. Im nativen Serum liegen die Werte um etwa 0,5 mg-% niedriger als im enteiweißten Serum. In einem anderen Teil der Probe kann Ca + Mg gegen Eriochromschwarz T titriert und aus der Differenz das Magnesium berechnet werden. — *Ausführung. 1. Natives Serum.* 1,00 ml der Probe verdünnt man mit 10 ml bidest. Wasser, fügt 4 Tr. möglichst carbonatfreie 50%ige Natronlauge und genügend Indicatorpulver (0,1 g Erio SE + 0,17 g Naphtholgrün B + 20 g NaCl) hinzu, um eine deutliche Rotfärbung zu erzeugen, und titriert mit 0,001 m ÄDTA-Lösung. — *2. Enteiweißtes Serum.* 2,00 ml Serum vermischt man mit 2,00 ml bidest. Wasser und 2,00 ml 20%iger Trichloressigsäure. Nach 10 min zentrifugiert man 10 min (3000 U/min), pipettiert von der überstehenden Flüssigkeit 3,00 ml ab (entsprechend 1,00 ml Serum), verdünnt mit 10 ml Wasser, fügt 5 Tr. 50%ige Natronlauge hinzu und verfährt weiter wie oben. — Zur *Ermittlung des Magnesiums* versetzt man 3,00 ml des Serums mit 3,00 ml bidest. Wasser und 3,00 ml 20%iger Trichloressigsäure. Nach 10 min zentrifugiert man 10 min und pipettiert 3,00 ml für die Calciumbestimmung und 3,00 ml für die Titration von Ca + Mg ab. Diese Lösung versetzt man mit 5 ml bidest. Wasser und verd. Ammoniak, bis Methylrot umschlägt, gibt 1 ml Pufferlösung (13,5 g NH_4Cl + 88 ml konz. Ammoniak in 250 ml; p_H 10) hinzu und titriert möglichst bei 50° C gegen Eriochromschwarz T

bis zum Umschlag nach Blau. — Um Schwermetallspuren zu maskieren, kann bei allen Titrationen etwas KCN zugesetzt werden.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **310**, 97—102 (1958). Nat. Res. Centre, Dokki-Kairo (Ägypten). G. Denk

Für die Calciumbestimmung im Blutserum empfehlen J. Stern und W. H. P. Lewis[1] die Farbmessung des mit *o-Kresolphthaleinkomplexon*[2] erhaltenen roten Komplexes. Um Störungen durch Lösungspartner zu vermeiden, isoliert man das Calcium zunächst als Oxalat, das dann geglüht und in Calciumchlorid übergeführt wird. Die Analysenfehler betragen im Mittel etwa 1%. Die Resultate stimmen mit den bei der Permanganatmethode erhaltenen Werten sehr gut überein. — *Ausführung.* 0,1 ml Serum wird im Zentrifugenröhrchen mit 0,2 ml 2%iger Ammoniumoxalatlösung versetzt und mindestens 30 min stehen gelassen. Man versetzt dann mit 1 ml 0,5%iger Ammoniumoxalatlösung und zentrifugiert 10 min mit 3000 U/min. Die Lösung wird abgesaugt, der Niederschlag wird mit 1 ml 0,5%iger Ammoniumoxalatlösung gewaschen. Nach nochmaliger Entfernung der überstehenden Lösung wird das Röhrchen bei 100—150° C getrocknet und dann 30 min auf 475—525° C erhitzt. Der Rückstand wird nach dem Abkühlen in 0,1 ml 1 n Salzsäure gelöst, die Lösung wird eingedampft, der neue Rückstand wird bei 100—150° C getrocknet und 5 min zur Entfernung von Säurespuren auf 200° C erhitzt. Nach dem Abkühlen setzt man 3 ml Reagenslösung zu; bestimmt wird die optische Dichte bei 575 mμ in der 1 cm-Zelle. — *Reagenslösung.* 10 mg o-Kresolphthaleinkomplexon werden in 50 ml einer Pufferlösung (12,404 g Borsäure + 100 ml n Natronlauge im Liter) gelöst und mit 50 ml 0,05 n Salzsäure versetzt, so daß die Lösung einen p_H-Wert von 8,5 hat. Das Reagens ist kühl aufbewahrt etwa 1 Woche haltbar.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **2**, 576—580 (1957). Fountain Hosp., London (England). — [2] Anderegg, G., H. Flaschka, R. Sallmann u. G. Schwarzenbach: Helv. chim. Acta **37**, 113 (1954); vgl. diese Z. **143**, 297 (1954). H. Zimmer

Eine Mikromethode zur Bestimmung von Calcium in Serum oder Urin, die M. E. Chilcote und R. D. Wasson[1] ausgearbeitet haben, beruht auf der Farbreaktion mit Ammoniumpurpurat (Murexid) in alkalischer Lösung[2]. — *Ausführung.* 0,5 ± 0,05 g eines fein gemahlenen Gemisches aus 100 mg Murexid und 54,0 g trockenem Natriumchlorid werden in 3,0 ml 0,25 n carbonatfreier Kalilauge gelöst. Die erhaltene Lösung wird mit 22 ml kaltem dest. Wasser verdünnt und sofort in einem Eisbad auf 4° C abgekühlt. Die nachfolgende Calciumbestimmung muß nun innerhalb 24 min durchgeführt werden. Man überführt einen aliquoten Teil (5,0 ml) der alkalischen Murexidlösung in eine Photometerküvette (an der Außenwand der Küvette kondensierende Luftfeuchtigkeit wird mit einem Gazebausch entfernt), stellt das Instrument bei 490 mμ auf 100% Durchlässigkeit ein, gibt aus einer Mikropipette 50 μl der Serum- oder Urinprobe zu, mischt (durch Einleiten von Luft) gut durch und mißt unmittelbar danach die Extinktion der erhaltenen Farblösung. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Die Kurve soll für einen Konzentrationsbereich von 2—16 mg Ca/100 ml aufgestellt werden. Sie folgt dem Beerschen Gesetz. Außerdem soll für jede neue Untersuchungsreihe eine Kontrollbestimmung durchgeführt werden. Die erhaltenen Werte zeigen gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Vergleichsanalysen.

[1] Clin. Chemistry **4**, 200—210 (1958). Univ. Buffalo, N. Y. (USA). — [2] Gorsuch, T. T., u. A. M. Posner: Nature (London) **176**, 268 (1955); vgl. diese Z. **150**, 221 (1956). K. Machner

Über die Bestimmung des Blutammoniaks und ihre Ergebnisse bei Leberkrankheiten berichten N. Zöllner und P. Birk[1]. Die Ammoniakbestimmung wird nach dem Prinzip der Mikrodiffusionsanalyse nach E. J. Conway[2] in Anlehnung

an eine Methode von H. Borsook und J. W. Dubnoff[3] durchgeführt. — *Arbeitsweise.* In das Mittelabteil eines Mikrodiffusionsschälchens[4] werden 0,1 ml 0,001 n Schwefelsäure eingebracht. Der äußere Teil des Schälchens wird auf der einen Seite mit 0,1 ml Boratlösung — man löst 12,4 g Borsäure in 100 ml 1 n Natronlauge und verdünnt mit dest. Wasser auf 1 l; die erhaltene Lösung wird mit konz. Natronlauge auf p_H 10,3 eingestellt und vor Gebrauch mit 95%igem Äthanol im Verhältnis 2:1 verdünnt — und auf der anderen Seite mit 0,1—0,2 ml der zu untersuchenden Blutflüssigkeit beschickt. Das Blut wird mit einer trockenen Spritze der gestauten Vene entnommen und sofort in ein Reagensglas gegeben, das eine kleine Spatelspitze trockenes, ammoniumfreies Heparin enthält. Man verteilt das Heparin im Blut und entnimmt dann die angegebene Probenmenge zur Untersuchung (eine Trennung von Erythrocyten und Plasma ist nicht notwendig, da die Erythrocyten gleichviel Ammoniak wie das Plasma enthalten). Anschließend wird der Rand des Schälchens mit alkalischem Glycerin als Dichtungsmittel bestrichen und mit einer Glasplatte, deren Unterseite ebenfalls mit Glycerin bestrichen ist, abgedeckt. Zum festen Verschluß dient ein Gummiband. Genau 5 min nach der Blutentnahme wird die Probe durch vorsichtiges Schwenken des Schälchens mit der Boratlösung vermischt, wodurch das Ammoniak freigesetzt wird (die angegebene Zeitspanne ist unbedingt einzuhalten, da der Ammoniakgehalt des Blutes nach Entnahme rasch ansteigt). Man läßt das Schälchen noch 2 Std in einem Brutschrank bei etwa 37° C stehen und titriert dann die überschüssige Schwefelsäure nach Zusatz von 1 Tr. Indicatorlösung (eine Lösung von 0,1% Bromcresylgrün und 0,2% Methylrot in Methanol) mit 0,001 n Natronlauge (Mikrobürette). Dabei soll die Bürettenspitze in die Schwefelsäure eintauchen. Ein Leerversuch wird entsprechend durchgeführt (der Leerversuch enthält an Stelle der Blutflüssigkeit die gleiche Menge dest. Wasser). Alle Untersuchungen (einschließlich des Leerversuches) sollen dreifach ausgeführt werden. Nach dem beschriebenen Verfahren werden bei Gesunden und bei Patienten ohne Lebererkrankungen Ammoniakwerte von 52 bis 54 μg-% erhalten. Bei Leberkranken sind dagegen Ammoniakwerte zwischen 75 und 164 μg-% beobachtet worden.

[1] Klin. Wschr. **1958**, 570—574. Med. Poliklinik, Univ. München. — [2] Biochemic. J. **29**, 2755 (1935); **33**, 457 (1939). — [3] J. biol. Chemistry **131**, 163 (1939). — [4] Hersteller: Fa. Rosenthal Porzellan AG., Abt., C, Marktredwitz. K. Machner

Zur Bestimmung des Ammoniumsulfatgehaltes in Serum durch *amperometrische Titration* verfahren M. K. Abramov und I. L. Teodorovič[1] nach folgender Methode, die bei Anwesenheit von etwa 0,1% $(NH_4)_2SO_4$ im Serum befriedigende Werte liefert; In einem 200 ml-Meßkolben versetzt man die Probe mit 20 ml 0,05 m $Pb(NO_3)_2$-Lösung, beläßt 3—5 min im siedenden Wasserbad, gibt nach dem Erkalten etwa 66 ml Aceton oder Äthanol hinzu und füllt mit Wasser zur Marke auf. Einen aliquoten Teil (30 ml) versetzt man in dem Titriergefäß mit 0,2 ml gesätt. Kaliumnitratlösung und einem Überschuß an Bleinitrat und titriert mit 0,01 m Kaliumhexacyanoferrat(II)-lösung unter Verwendung einer rotierenden Platinmikroelektrode.

[1] Ž. anal. Chim. **12**, 566 (1957) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Pharm. Inst., Taschkent (UdSSR). H. Wunderlich

Zur polarographischen Bestimmung des Sauerstoffpartialdrucks in der Cerebrospinalflüssigkeit von Menschen haben W. W. Alberts, E. Brochmann-Hanssen, R. B. Aird und S. Winston[1] die Mikrozelle in Abb. 1 für 3 ml-Proben angegeben, in der die Probe polarographiert werden kann, ohne daß sie mit Luft in Berührung kommt. Hierzu wird die Zelle über den Hahn *H* bis *E* vollkommen mit

Quecksilber gefüllt. In *E* ist eine Injektionsnadel eingekittet, in welche die Entnahmespritze unmittelbar nach der Entnahme von 10 ml Cerebrospinalflüssigkeit eingesetzt wird. Das erste Drittel der Probe wird durch den Auslaß am Dreiwegehahn verworfen, das zweite Drittel über *D* in die Zelle eingesaugt. Dann wird von $-0{,}5$ V beginnend bis $-0{,}7$ V gegen die Bodenanode *G* (Verbindung über *A*) an der Tropfelektrode *C* polarographiert. Der Diffusionsstrom bei $-0{,}6$ V wird vermessen.

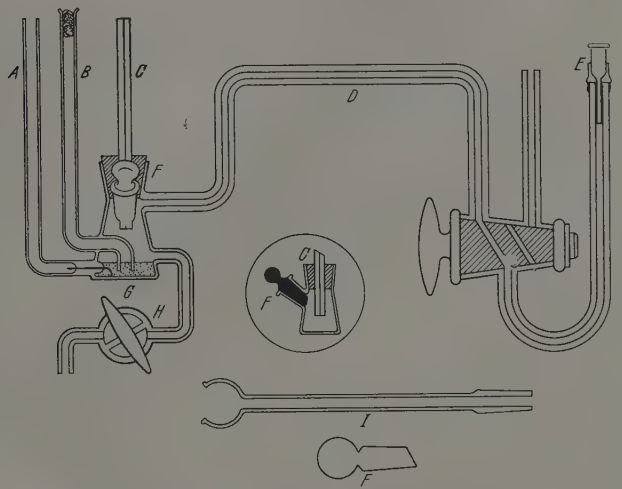


Abb. 1. Polarographier-Mikrozelle nach ALBERTS u. Mitarb.

(1. Sauerstoffstufe.) Dann wird der Glasstopfen *F* durch das Gasauslaßrohr *J* ersetzt und über *B* mit reinem, an Wasser bei 25° C gesätt. Stickstoff vom Sauerstoff befreit (20 min) und der Grundstrom gemessen. Schließlich wird mit Luft äquilibriert und wiederum der Diffusionsstrom bei $-0{,}6$ V gemessen. An 25 verschiedenen Proben wird ein Partialdruck zwischen 16 und 30, im Mittel 23 mm Hg ermittelt, der bei einem Löslichkeitskoeffizienten von 0,026 bei 25° C zu einem Sauerstoffgehalt in situ von 0,05—0,10 Vol-% führt und für 37° C einem um 8% höheren Gehalt entspricht.

[1] Arch. Biochem. Biophysics **74**, 100—105 (1958). Univ. of California, Medical Center, San Francisco, Calif. (USA). K. CRUSE

Jod. *Zur colorimetrischen Bestimmung von eiweißgebundenem Jod im Plasma* haben G. A. ROBINSON und H. A. DELUCA[1] die von S. B. BARKER, M. J. HUMPHREY und M. H. SOLEY[2] angegebene Methode umgearbeitet, die auf der katalytischen Wirkung des Jodids bei der Reduktion von Cer(IV) mit arseniger Säure beruht. — *Ausführung.* 0,5 ml Heparin-Plasma werden in einem Pyrexglas (13×100 mm; es sollen ausschließlich neue Gläser verwendet werden) mit 0,5 ml 10%iger Zinksulfatlösung versetzt und sorgfältig geschüttelt. Anschließend gibt man unter kräftigem Rühren 0,5 ml 2%ige Natronlauge zu (die beiden Reagenslösungen sollen so eingestellt werden, daß 11,0 $\pm$ 0,2 ml der Natronlauge im Gemisch mit 10,0 ml der Zinksulfatlösung bei Zugabe von Phenolphthalein eine blaßrosa Färbung erkennen lassen), wäscht den Niederschlag mit 5 ml dest. Wasser,

zentrifugiert 5 min, verwirft die überstehende Flüssigkeit und wiederholt das Waschen noch 3mal in der beschriebenen Weise. Der Rückstand wird mit 0,5 ml 20%iger Natriumcarbonatlösung verrührt und über Nacht bei 70—90° C getrocknet. (Die Trockendauer kann auf 10—15 min abgekürzt werden, wenn eine geeignete Trockenapparatur verwendet wird [Beschreibung der Apparatur im Original].) Der feingemahlene Trockenrückstand wird in einem elektrischen Muffelofen $1^1/_2$—2 Std bei 640 ± 10° C gleichmäßig verascht (die angegebene Temperatur ist unbedingt einzuhalten). Zu der abgekühlten Asche gibt man vorsichtig 0,5 ml 4 n Salzsäure, läßt dann noch 2 ml 2 n Schwefelsäure zufließen, mischt gut durch und zentrifugiert 5 min bei etwa 2000 U/min. 2,0 ml der überstehenden Flüssigkeit werden in eine Photometerküvette mit 0,5 ml 1%iger Natriumarsenitlösung gebracht. Man erwärmt das Gemisch in einem Thermostaten 15 min auf 39 ± 0,1° C, gibt dann 1,0 ml 2%ige Cer(IV)-sulfatlösung zu [20 g $Ce(NH_4)_4(SO_4)_4 \cdot 4H_2O$ + 85 ml konz. Schwefelsäure + dest. Wasser auf 1 l; die Reagenslösung wird vor Gebrauch ebenfalls auf 39° C erwärmt], mischt sehr sorgfältig, beläßt das Reaktionsgemisch noch genau 10 min im Thermostaten und mißt unmittelbar danach die Extinktion der resultierenden Farblösung bei 425 mμ. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Zum Aufstellen der Eichkurve werden geeignete Volumen (0, 0,2, 0.4 . . . 1,0 ml) einer Natriumjodidlösung, die 0,08 μg Jod/Milliliter enthält, mit dest. Wasser auf jeweils 1,0 ml verdünnt und in Pyrexgläsern bei 90° C zur Trockne verdampft. Man löst den Rückstand in 2,0 ml Ascheextrakt (jeweils 0,5 ml einer 6,7%igen Albuminlösung [Eialbumin, „Merck"] werden an Stelle der Plasmaprobe wie angegeben vorbehandelt; die Eiweißasche wird dann mit einem Gemisch aus 0,5 ml 4 n Salzsäure und 2 ml 2 n Schwefelsäure extrahiert), gibt 0,5 ml 1%ige Natriumarsenitlösung zu, erwärmt im Thermostaten auf 39 ± 0,1° C und setzt die Bestimmung in der beschriebenen Weise fort. Beleganalysen zeigen gute Übereinstimmung mit den erwarteten Werten. Bei 95 Testpersonen, deren Blutplasma nach dem beschriebenen Verfahren untersucht worden ist, lag der Jodgehalt zwischen 3,4 und 7,9 μg-%.

[1] Canad. J. Biochem. Physiol. **36**, 701—706 (1958). Univ. London, Ont. (Canada). — [2] J. Clin. Invest. **30**, 55 (1951); vgl. diese Z. **135**, 458 (1952). K. Machner

Vergleichende mikrochemische Untersuchungen des Jodgehaltes von Serum und Tränenflüssigkeit haben A. Pillat, F. Trichtel und M. Oberhummer[1] angestellt. Zur Tränengewinnung wurde ein in 10%igen Mentholspiritus getauchter Wattebausch auf die mit 1%igem Borvaselin geschützte Wangenhaut aufgelegt, wodurch ein starker, eine Zeitlang andauernder Tränenfluß erzeugt werden konnte. Zur Serumgewinnung wurde das abgenommene Blut sofort 10 min zentrifugiert und das reine Serum mit einer Mikropipette entnommen. Das erhaltene Untersuchungsmaterial (0,2 ml Tränenflüssigkeit bzw. 0,5 ml Blutserum) wurde nach der von H. Spitzy und M. Reese angegebenen (bisher nicht veröffentlichten) Methode analysiert. Ihr Prinzip besteht darin, daß die Probe mit Chromschwefelsäure verascht (dabei wird das freiwerdende Jod zu nicht flüchtiger Jodsäure oxydiert), die erhaltene Jodsäure mit phosphoriger Säure reduziert und mittels Isothermdiffusion isoliert wird. Die Endbestimmung erfolgte durch katalytische Wirkung des Jods auf das System Cer(IV)-sulfat/arsenige Säure. Wegen der hohen Empfindlichkeit dieser Methode war die Jodfreiheit aller zur Bestimmung verwendeten Instrumente und Gefäße unbedingte Voraussetzung für richtige Ergebnisse. — Es zeigte sich, daß der Jodgehalt der Tränen im Durchschnitt die Hälfte der Serumwerte beträgt. Schwankungen im Blutjodspiegel werden vom Jodgehalt der Tränen verzögert aufgezeigt.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1957**, 520 -526. 1. Univ.-Augenklinik, Wien, und Paracelsus-Inst. Bad Hall (Österreich). K. Machner

Die spektrophotometrische Bestimmung von Eisen im Serum mit o-Nitrosoresorcinmonomethyläther[1] beschreiben S. Umemoto und Y. Yamamoto[2]. — *Ausführung.* In einem Zentrifugenglas werden 2,0 ml klares Serum mit 0,5 ml 6 n Salzsäure angesäuert. Nach 10 min wird 1,0 ml 20%ige Trichloressigsäure zur Enteiweißung zugesetzt. Nach dem Zentrifugieren wird die überstehende Lösung (Nachwaschen erübrigt sich bei ausreichendem Zentrifugieren) in einen 10 ml-Meßzylinder gebracht und das enthaltene Eisen mit 0,5 ml 10%iger Hydroxylaminhydrochloridlösung reduziert. Nach 15 min neutralisiert man mit 6 n Ammoniak (Indicator: 1 Tr. 0,1%ige p-Nitrophenollösung) und setzt 2,0 ml Acetatpuffer (p_H 4,5) sowie 0,5 ml 5%ige Natriumthiosulfatlösung (zum Ausschalten des die Reaktion störenden Kupfers) zu. Nach 5 min gibt man 1 ml einer gesättigten wäßrigen Lösung des o-Nitrosoresorcinmonomethyläthers (Löslichkeit 40,2 mg je 100 ml) in das Gemisch, verdünnt auf 10 ml, läßt 15 min stehen und extrahiert 4mal mit je 2 ml Tetrachlorkohlenstoff zur Entfernung des überschüssigen Farbstoffes. Etwa suspendiertes CCl_4 wird durch Zentrifugieren aus der Lösung entfernt, die Absorption der Lösung wird in einer 20 mm-Küvette bei 700 mμ gemessen.

[1] Torii, T.: J. chem. Soc. Japan, pure Chem. Sect. **76**, 333 (1955). — [2] Bull. chem. Soc. Japan **31**, 1—3 (1958). Okayama Univ., Misasa Hot Springs, Tottori Prefecture (Japan). Ursula Baumann

Alkoholbestimmung im Blut. Nach L. A. Williams, R. A. Linn und B. Zak[1] läßt sich die Empfindlichkeit der Alkoholbestimmung im Blut dadurch bedeutend steigern, daß man nach der üblichen Oxydation mit Dichromat den Dichromatüberschuß mit *Brucin* colorimetrisch bestimmt. Die Verff. haben festgestellt, daß Brucin mit Dichromat in schwefelsaurer Lösung unter den unten angegebenen Bedingungen rasch reagiert. Die Farbe entwickelt sich in 5 min. Das in der Lösung vorhandene dreiwertige Chrom stört nicht. Zur Durchführung der Alkoholbestimmung genügt die Menge Blut, die aus der Fingerbeere erhalten wird. — *Arbeitsweise.* 3 ml Kaliumdichromatlösung (0,710 g gelöst in 1 l 50%iger Schwefelsäure v/v) werden in den inneren und 1 ml 20%iger Sodalösung in den äußeren Teil einer Conway-Zelle mit eingefettetem Rand gegeben. Der Deckel wird so aufgesetzt, daß man in den Außenteil 100 μl Blut pipettieren kann. Dann wird die Zelle verschlossen und der Inhalt des äußeren Teiles durch vorsichtige Rotation gemischt. Nach einstündigem Erwärmen auf 55—65° C wird abgekühlt und der Inhalt des inneren Teiles quantitativ in einen 25 ml-Meßkolben übergeführt, indem man 3mal mit 3 ml Wasser nachwäscht. Darauf gibt man 3 ml der Brucinlösung (1 g Brucin in 100 ml 10%iger Schwefelsäure gelöst) zu, mischt, füllt zur Marke auf und mißt die Extinktion bei 425 mμ gegen Wasser im Beckman-DU-Spektrophotometer. Die Eichkurve wird unter den gleichen Bedingungen mit verdünnten 0,08—0,4%igen Alkohollösungen aufgestellt.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **3**, 169—172 (1958). Wayne State Univ. College Med. und Receiving Hosp. Detroit, Mich. (USA). B. Rossmann

Über die Trennung von höheren Fettsäuren aus menschlichem Blutserum *(Stearin-, Palmitin-, Öl-, Linol- und Linolensäure)* durch zweidimensionale Papierchromatographie bei 20° C (1. Entwicklung) und —8° C (2. Entwicklung) berichtet Č. Michalec[1]. — *Arbeitsweise.* Ein Streifen Whatman-Papier Nr. 3 (15×15 cm) wird mit einer Lösung von 5% Paraffinöl in Äther imprägniert. 2 cm vom unteren Papierrand wird die Probe aufgegeben und innerhalb von 5 Std das Chromatogramm aufsteigend bei 20° C entwickelt, wobei 93%ige Essigsäure als mobile Phase dient. Anschließend wird das Chromatogramm bei 80—90° C getrocknet. Die zweite

Entwicklung wird bei —8° C mit einer Mischung aus 85%iger Ameisensäure, Essigsäure und Wasser (50 : 50 : 5) innerhalb von 16—20 Std durchgeführt. Die getrennten Verbindungen werden mit Kupfer(II)-acetat und Kaliumhexacyanoferrat(II) oder Quecksilber(II)-acetat und Diphenylcarbazon identifiziert. — *Isolierung der höheren Fettsäuren aus dem Blutserum.* Zu 1 ml Blutserum werden 9 ml einer Äthanol-Äthermischung (3 : 1) hinzugefügt. Die Mischung bleibt 10 min stehen und wird dann zentrifugiert. 5 ml klare, überstehende Lösung werden fast zur Trockne gebracht und nach dem Zufügen von 2 ml einer gesättigten methanolischen Ätzkalilösung 2 Std in einem heißen Wasserbad verseift. Nach dem Abkühlen und Verdünnen mit 3 ml Wasser säuert man mit Schwefelsäure an. Die freien Säuren werden mit 5 ml Äther extrahiert und der Verdampfungsrückstand in 0,2 ml Chloroform gelöst. 0.05 ml dieser Lösung werden chromatographiert.

[1] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **28**, 212—213 (1958). Univ. Prag (ČSR). D. Jentzsch

Für die chromatographische Isolierung aromatischer Substanzen aus Urin wendet P. Smith[1] das folgende *Verfahren* an: Man führt „Deacidite E" (Chloridform, Permutite Co., Ltd.) nach Vortrocknen mit Filtrierpapier und Sieben (200 mesh) in die Acetatform über, in der das Harz lagerfähig ist. Unmittelbar vor Beginn der Chromatographie bringt man 0,5 g des Austauschers nach dem Anschlämmen mit Methanol in ein Pyrex-Mikrofilter Nr. 3. Dann erhitzt man den innerhalb von 30 min ausgeschiedenen Harn nach Zusatz von 15% seines Volumens an konz. Salzsäure unter Rückfluß 30 min lang zum Sieden, kühlt und schüttelt die vorher mit Kochsalz gesättigte Flüssigkeit mit Äther aus. Die mit wasserfreiem Natriumsulfat getrockneten vereinigten Ätherextrakte dampft man zur Trockne ein, nimmt den Rückstand in wenig Methanol auf, bringt diese Lösung auf die Harzsäule und wäscht mit 15 ml Methanol nach. Das die nichtsauren Bestandteile enthaltende Methanoleluat engt man im Vakuum ein und bewahrt es für die papierchromatographische Trennung auf. Nun läßt man die Deacidite-Säule über Nacht unter 20 ml 2 n Schwefelsäure, die 5 ml Dioxan enthält, stehen, läßt am nächsten Tage abtropfen, extrahiert das kochsalzgesättigte Eluat mit Äther und konzentriert die getrockneten Ätherauszüge. Für die papierchromatographische Entwicklung bringt man je 1/6 der beiden Konzentrate auf Whatman-Papier Nr. 20, entwickelt zuerst mit der unteren Phase des Systems Äthylendichlorid-Essigsäure-Wasser (2 : 1 : 1), (das Papier ist vorher mit einer 10%igen acetonischen Lösung der wäßrigen Phase des Fließmittels besprüht worden), und dann mit 20%iger Kaliumchloridlösung. Durch UV-Bestrahlung mit Licht von 253,7 mμ und 366 mμ lassen sich fluorescierende Stoffe feststellen. Beim anschließenden Besprühen mit verschiedenen Reagenslösungen können weitere Substanzen sichtbar gemacht werden (siehe Original). — Verf. stellte mittels des beschriebenen Verfahrens u. a. *p-Hydroxybenzalhydantoin, 5,7-Dihydroxy-methylcumarin, m-Cumarinsäure, Vanillinsäure* und *3-Methoxy-4-hydroxymandelsäure* fest.

[1] Chem. and Ind. **1958**, 758–759. R. A. F. Inst. Aviation Med., Farnborough, Hants. (England). K. Söllner

Eine Färbemethode zur direkten quantitativen Bestimmung von Lipoiden und Lipoproteinen auf Filtrierpapier haben K. F. Talluto, R. R. Benerito und W. S. Singleton[1] ausgearbeitet. – *Arbeitsweise.* Man beschickt Streifen von Whatman-Filtrierpapier 3 MM mittels einer Mikropipette mit 1%igen Lösungen der Lipoide in Chloroform bzw. führt für die Untersuchung von Serum-Lipoiden die in einer früheren Arbeit[2] beschriebene Papierelektrophorese durch, so daß die Proben zwischen 10 und 50 μl Analysenmaterial enthalten und taucht die Streifen in gesättigte Lösungen von Ölrot O (National Aniline Division, Allied Chemical and

Dye Corp.) in folgenden Lösungsmitteln ein: 1. 60%iges Äthanol bei 25° C und 2. bei 4° C. 3. 50%iges Diacetin in Wasser bei 25° C. 4. Lösung 2, 4 fach mit 60%igem Äthanol bei 4° C verdünnt. 5. Lösung 1, vierfach mit 60%igem Äthanol bei 25° C verdünnt. Nach dem Waschen und Trocknen der Streifen behandelt man diese mit einer gesättigten Lösung von Rohrzucker in Wasser von 25° C oder mit einer Mischung von 200 ml Xylol, 1000 ml weißem Paraffinöl, 500 ml α-Bromnaphthalin und 17 g Span 80, um die Lichtstreuung der Streifen auf ein Minimum herabzusetzen und ermittelt die Farbstoffaufnahme mit einem Photometer (Einzelheiten im Original).

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1059—1062 (1958). Dep. Agricult., New Orleans, La. (USA). — [2] Formusa, K. M., R. R. Benerito, W. S. Singleton u. J. L. White: Analyt. Chemistry **29**, 1816 (1957); vgl. diese Z. **163**, 312 (1958). K. Söllner

Ein Versuch zur Bestimmung der Gesamtlipoide im Serum durch Färbung eines abgemessenen Serumtropfens mit *Ölrot 0* (statt mit Sudanschwarz B nach B. Swahn[1]) lieferte nach F. A. Pezold[2] keine exakten Ergebnisse.

[1] Swahn, B.: Scand. J. clin. Lab. Invest. **5**, Suppl. 9, 1 (1953); vgl. auch diese Z. **142**, 400 (1954). — [2] Klin. Wschr. **1958**, 560—563. Freie Univ. Berlin. Ursula Baumann

Untersuchungen über die papierchromatographische Trennung von Serum-Lipoproteiden führen Č. Michalec, M. Šťastný und E. Nováková[1] durch. Sie erhalten 2 Fraktionen (α und β) der Lipoproteide, die qualitativ und quantitativ untersucht werden. Die Ergebnisse stimmen mit den bei der Papierelektrophorese gewonnenen überein. — *Ausführung.* Einen Streifen Whatman-Papier Nr. 3 tränkt man mit Veronal/Oxalat/Citrat-Puffer (p_H 8,5, $\mu = 0{,}06$) und tropft 0,03 ml Serum auf. Dann chromatographiert man absteigend mit Isopropanol-(Veronal/Oxalat/Citrat-Puffer) (40:60) bei Zimmertemperatur. Man trocknet das Chromatogramm nach 3 Std bei 70—80° C. Die Lipoproteide weist man mit Sudanschwarzlösung in 60%igem Methanol nach, wobei man 2 Std bei 37° C einwirken läßt und anschließend 1 Std wässert. Zur quantitativen Bestimmung werden die Lipoproteide mit 25%iger Essigsäure in Methanol oder Äthanol eluiert und bei 650 mμ colorimetriert. Proteine werden auf die übliche Art nachgewiesen.

[1] Naturwissenschaften **45**, 241 (1958). Univ. Prag (ČSR). Ursula Baumann

Über eine Mikrobestimmung von Harnstoff in biologischen Flüssigkeiten in Mengen von 5—20 μl berichten D. Watson und D. A. Pratt[1]. — *Ausführung.* In ein Teströhrchen (50×8 mm), in dem sich 1 Tr. einer 10%igen Sojabohnenmehl-Suspension befindet, pipettiert man genau etwa 20 μl frisches Blut, Cerebrospinalflüssigkeit oder verd. Urin. Die Sojabohnenmehl-Suspension wird in 0,1%iger Citratlösung bereitet und mit Natriumhydroxyd auf p_H 6,8—7,2 gebracht. Über der Rohröffnung befestigt man ein Stück Whatman-Papier Nr. 3 MM, befeuchtet es mit 1 Tr. Silbernitrat-Mangan(II)-nitrat-Reagens nach Feigl[2] und lagert das Röhrchen zur Entwicklung des Testflecks 6 min lang in einem auf 120° C erwärmten Trockenschrank. Danach vergleicht man die Färbung des Mangan(IV)-oxyd-Silber-Niederschlags auf dem Papier mit Färbungen, die man mit Standard-Harnstofflösungen auf demselben Wege erzeugt hat. Unter den angegebenen Versuchsbedingungen werden durch die Urease der Sojabohne innerhalb 1 min bis zu 30 μg Harnstoff quantitativ in Ammoniak umgewandelt. Mit Hilfe dieser Bestimmungsmethode sollen sich 24 Analysen in weniger als 15 min durchführen lassen.

[1] Nature (London) **181**, 1475 (1958). Dep. Pathol. Derbyshire Royal Infirmary, Derby (England). — [2] Feigl, F.: Mikrochemie **13**, 132 (1933); vgl. auch diese Z. **99**, 203 (1934). B. Schühlein

Eine turbidimetrische Methode zur Bestimmung des Blutharnstoffs wird von H. LAWRIE[1] beschrieben. *Arbeitsvorschrift.* Zu 0,2 ml Serum oder Plasma (bzw. 0,4 ml des eiweißfreien Filtrates) gibt man 4 ml 50%ige Essigsäure (bzw. 3,8 ml) und dann 0,4 ml 5%ige methanolische Xanthydrollösung, ohne daß diese die Glaswand des Gefäßes berührt. Nach vorsichtigem Schütteln läßt man 15 min bei Raumtemperatur stehen und mißt die Trübung colorimetrisch unter Benutzung eines Rotfilters. Gehalte von 100 mg/100 ml und darüber können in weniger als 1 min bestimmt werden. Die Genauigkeit ist für den klinischen Gebrauch ausreichend.

[1] Clin. Chemistry **3**, 691—695 (1957). Central Pathol. Lab., Burnley, Lancashire (England). A. MÜHRDEL

Über die Durchführung von Harnstoff-, Kreatinin- und Harnsäurebestimmungen berichtet M. EGGSTEIN[1]. Harnstoff in *Blut oder Urin* wird nach VAN SLYKE und CULLEN mit Urease zu Ammoniak hydrolysiert und dieses in einer CONWAY-Zelle bestimmt. Der Gehalt an Kreatinin wird in der Weise ermittelt, daß man zuerst die störenden Stoffe mit Fullererde abtrennt und sodann eine alkalische Pikrinsäurelösung hinzufügt, wobei Pikromat entsteht, das photometriert wird (vgl. auch H. POPPER, E. MANDEL und H. MEYER[2]). Zur Bestimmung von Harnsäure mißt man die Extinktion bei 293 mμ, zersetzt die Harnsäure mit Uricase und bestimmt erneut die Extinktion (vgl. E. PRÄTORIUS und H. POULSON[3]). — *Bestimmung von Harnstoff.* 0,2 ml Serum bzw. Vollblut bzw. Urin (1:100) werden in einer Conway-Zelle, deren äußeres Gefäß mit Borsäure beschickt ist, mit Ureaselösung und nach 10 min mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung versetzt und 1,75 -2,5 Std bei 37° C stehen gelassen. Das Ammoniak destilliert in die Borsäurelösung über und wird dort mit 0,01 n Salzsäure titriert. — *Bestimmung von Kreatinin im Serum.* 4 ml Serum werden tropfenweise zu 12 ml einer gesättigten Pikrinsäurelösung gegeben, 10 min im kochenden Wasserbad umgeschwenkt und filtriert. Zu 10 ml Filtrat setzt man 0,5 ml 10%ige Natronlauge und läßt 20 min stehen. Dann photometriert man mit Filter S 53. — *Bestimmung von Harnsäure in Urin. Lösungen. Pufferlösung.* 25 g Glycin werden in 200 ml Wasser gelöst, mit 100 ml 1 n Natronlauge versetzt und auf 500 ml aufgefüllt. 1 Teil dieser Stammlösung wird mit 9 Teilen Wasser versetzt und der p_H-Wert mit Säure oder Lauge auf 9,3 eingestellt. *Uricase-Lösung.* Der Inhalt einer Ampulle Uricase (Leo-Pharmaz. Prod. Kopenhagen) wird in 0,5 ml Glycinpufferlösung gelöst. *Bestimmung.* Man bestimmt den Leerwert der Enzymlösung, indem man 0,02 ml Uricaselösung mit 3,1 ml Pufferlösung vermischt und bei 293 mμ gegen die Pufferlösung photometriert (E_1). Dann mißt man die Extinktion von 0,1 ml Probelösung + 3 ml Pufferlösung (E_2), gibt 0,02 ml Uricaselösung hinzu und bestimmt die Extinktion in Abständen von 5 -10 min oder nach 15 min (E_3). Der Extinktionsabfall $E = E_2 + E_1 - E_3$ ist proportional der Harnsäuremenge.

[1] Ärztl. Laborat. **4**, 33—41 (1958). Medizin. Univ.-Klinik Marburg/Lahn. — [2] Biochem. Z. **291**, 354 (1937). — [3] Scand. J. Clin. Lab. Invest. **5**, 273 (1953); vgl. diese Z. **146**, 206 (1955). G. KAINZ

Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung von Äthanolamin (I) und Serin(II) in Lipoiden beschreiben S. NOJIMA und N. UTSUGI[1]. — *Verfahren.* Man versetzt 1 ml einer je 1 μMol I und II enthaltenden wäßrigen Lösung in einem 20 ml Stopfenglas mit 1 ml Wasser, gibt 0,2 ml einer Lösung von 0,1 ml Dinitrofluorbenzol in 2 ml 95%igem Äthanol sowie 0,5 ml einer 5%igen wäßrigen Natriumhydrogencarbonatlösung zu und erwärmt das verschlossene Glas 1 Std lang auf dem Wasserbad bei 80° C unter gelegentlichem Umschütteln. Nach dem Abkühlen

versetzt man den Ansatz mit genau 10 ml reinem Xylol, schüttelt 5 min lang kräftig durch und läßt 10 min lang stehen. Nach dem Absetzen enthält das Xylol die Dinitrophenylverbindung von I, während die von II in der wäßrigen Phase verbleibt. — Zur *Bestimmung von I* versetzt man 8 ml der Xylolphase in einem Schütteltrichter mit 10 ml 6 n Salzsäure und 30 ml Petroläther, schüttelt 5 min lang durch, läßt absitzen und bestimmt die optische Dichte der wäßrigen Schicht bei 420 mμ, die für die angegebene Konzentration 0,500 beträgt. — *Bestimmung von II.* Man entfernt den Rest des Xylols, schüttelt die wäßrige Lösung noch 2mal mit je 8 ml Xylol aus und trennt dieses sorgfältig ab. Dann säuert man die wäßrige Phase mit 0,5 ml 1n Salzsäure an und schüttelt daraufhin wieder 3mal mit je 8 ml Xylol aus. Dann versetzt man genau 2,5 ml der wäßrigen Lösung mit 0,15 g $NaHCO_3$ und mit 5 ml Wasser und ermittelt im Beckman-Spektrophotometer Modell DU die optische Dichte bei 400 mμ. Sie beträgt bei der angeführten Konzentration 0,800. Auf analoge Weise kann auch Cholin bestimmt werden.

[1] J. Biochemistry (Tokyo) **44**, 565–573 (1957). Nat. Inst. Health, Tokyo (Japan). K. Söllner

Über die Bestimmung von Spermin, Spermidin und von anderen biogenen Aminen nach papierelektrophoretischer Abtrennung und über ihre Mengenverhältnisse in tierischen Organen berichten F. G. Fischer und H. Bohn[1]. Die angewandte Methode gestattet die exakte Trennung von *Spermin, Spermidin, Cadaverin, Putrescin, Trimethylendiamin, Histamin* und *Colamin*. Die quantitative Bestimmung erfolgt nach der Methode von E. Kawerau und Th. Wieland[2] bei der die Ninhydrinfärbung in einen leicht löslichen Kupferkomplex überführt wird. Im Zweifelsfall werden die Pherogramme chromatographisch aufgearbeitet, um zu einer einwandfreien Identifizierung der Substanzen zu kommen. Folgende Mengen werden nachgewiesen (Milligramme in 100 g Gewebe). *Schweinepankreas.* Spermidin 32,5, Spermin 16,8, Colamin 2–3, Putrescin 0,1. *Ochsenleber.* Spermidin 1,8, Spermin 12,7, Colamin 1, Histamin 1. *Ochsenlunge.* Spermidin 2,7, Spermin 5,5, Colamin 1–2, Putrescin 0,5, Histamin 4,7 (2,7). *Hefe.* Spermidin 13,0, Spermin 5,6, Colamin 1,8, Putrescin 0,2. Nach Hydrolyse der Gewebe steigt der Spermidin- bzw. Spermingehalt nicht an. Diese Amine liegen also frei vor. Der Colamingehalt ist nach alkal. Hydrolyse als Folge der Spaltung von Kephalinen erhöht. — *Ausführung.* Die Gewebe werden im Starmix zerkleinert, mit der doppelten Menge siedendem Wasser und je 10 g Gewebe 0,1 ml Eisessig siedend extrahiert und scharf abgesaugt. Man wiederholt den Vorgang mit halb so viel Wasser. Die in den Lösungen enthaltene Trübung stört die Elektrophorese nicht. Die Extrakte werden mit Thymol konserviert. Die Elektrophoresen werden im „Pherograph" nach Th. Wieland und G. Pfleiderer[3] bei 0° C ausgeführt. Die Papierstreifen (Whatman Nr. 1, 15 × 40 cm) werden mit Pufferlösung getränkt, in die Kammer eingelegt und die Analysen- und Vergleichslösung in 5 cm-Strichen (Abstand 1,5 cm) aufgetragen. 50–150 μl genügen meist. Am zweckmäßigsten erweisen sich folgende Puffergemische: 1. 40 ml Pyridin, 30 ml Eisessig, 12 g Citronensäure, 930 ml Wasser. Spannungsgefälle 14,5 V/cm, Stromstärke 50 mA. Alle oben angegebenen Amine werden sicher getrennt. Spermin, Spermidin und Cadaverin können quantitativ bestimmt werden, Colamin nur in Abwesenheit von Histamin (und umgekehrt), Putrescin nur in Abwesenheit von Trimethylendiamin. 2. 50 ml Pyridin, 50 ml Eisessig, 900 ml Wasser. 13,5 V/cm, 50 mA. Trimethyldiamin und Putrescin werden quantitativ getrennt. Spermin und Colamin können bestimmt werden; in Abwesenheit von Cadaverin und Histamin ist auch die Bestimmung von Spermidin möglich. 3. 40 ml Pyridin, 20 ml Eisessig, 20 g Citronensäure, 940 ml Wasser, 18,0 V/cm, 65 mA. Es erfolgt exakte Abtrennung von Histamin, außerdem können

Spermin, Spermidin und Colamin bestimmt werden. — Die Pherogramme werden nach dem Trocknen mit Ninhydrinlösung angefärbt (bei Puffer 1 und 2 verwendet man eine Lösung von 0,5 g Ninhydrin und 1,2 g Natriumacetat in 0,2 ml Eisessig und 100 ml Methanol, bei Puffer 3 enthält die Lösung 2 g Natriumacetat, sonst hat sie gleiche Zusammensetzung). Man trocknet erneut, hält 25 min bei 60° C und schneidet auseinander. Nach Aufsprühen eines Kupferreagenses (2 ml gesättigte wäßrige Kupfernitratlösung, 0,2 ml 10%ige Salpetersäure, 100 ml 96%iger Alkohol) wird der sich bildende rote Komplex mit je 5 ml Methanol ausgezogen, die Lösungen werden nach 15—30 min in 1 cm-Küvetten bei 506 mμ spektralphotometrisch bestimmt. Die Empfindlichkeit liegt bei 1,5 μg (Histamin 3 μg) für die quantitative und 0,5 μg für die qualitative Bestimmung. Für eine gegebene chromatographische Identifizierung wird der zu untersuchende „Strich" aus dem Pherogramm ausgeschnitten und in 1 ml Wasser eluiert. Chromatographiert wird 15—20 Std absteigend bei 20° C mit Phenol (p_H 1; farbloses Phenol wird mit dem gleichen Volumen eines Gemisches von 50 ml 0,2 m KCl-Lösung und 97,0 ml 0,2 m Salzsäure geschüttelt). Die so ermittelten *R_f-Werte* sind: *Spermin 0,12, Trimethylendiamin 0,14, Spermidin 0,18, Putrescin 0,26, Cadaverin 0,38, Colamin 0,39, Histamin 0,44, Agmatin 0,55.*

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **308**, 108–115 (1957). Univ. Würzburg. — [2] Nature (London) **168**, 77 (1956); vgl. diese Z. **154**, 236 (1957). — [3] Angew. Chem. **67**, 257 (1955); vgl. diese Z. **149**, 125 (1956). Ursula Baumann

Zur Bestimmung von Brenztraubensäure im Blut von Leberkranken und Diabetikern vergleicht M. Bianchessi[1] die von D. Cavallini und N. Frontali[2] angegebene papierchromatographische Methode mit dem von T. E. Friedemann und G. E. Haugen[3] beschriebenen colorimetrischen Verfahren. Obwohl beide Methoden auf der Reaktion der Ketosäuren mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin beruhen, werden nach dem chromatographischen Verfahren zum Teil wesentlich niedrigere Werte erhalten. Während z. B. bei Leberkranken in beiden Fällen eine Zunahme der Brenztraubensäurekonzentration angezeigt wird, können bei Diabetikern nur nach der direkten colorimetrischen Methode erhöhte Brenztraubensäuregehalte festgestellt werden. Die Ergebnisse zahlreicher Untersuchungen werden im Original eingehend diskutiert.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **3**, 179—182 (1958). Univ. Mailand (Italien). — [2] Ricerca Sci., **23**, 807 (1953;) vgl. diese Z. **146**, 398 (1955). — [3] J. biol. Chemistry **157**, 673 (1945). K. Machner

Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung von Hydroxypyruvat und Glykolaldehyd beschreiben F. Dickens und D. H. Williamson[1]. — *Arbeitsweise.* 1 ml der Probelösung mit 0,1—1,0 μMol Hydroxypyruvat bzw. Glykolaldehyd wird in einem Reagensglas mit eingeschliffenem Glasstopfen mit 0,1 ml 0,5%iger Naphthoresorcinlösung (das Reagens wird bei Gegenwart von Aktivkohle aus der 20fachen Menge Benzol umkristallisiert und vor Gebrauch in Äthanol gelöst) und 6 ml 27 n Schwefelsäure versetzt (bei der Untersuchung von *biologischem Material* muß die Probe vorher mit 3%iger Trichloressigsäure enteiweißt werden). Man verstopft das Glas, schüttelt, erhitzt das Reaktionsgemisch 20 min im kochenden Wasserbad, kühlt ab und mißt die Extinktion der erhaltenen Farblösung bei 660 mμ unter Verwendung von 1 cm-Küvetten. Ein Blindversuch wird entsprechend durchgeführt. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. (Die Eichkurve ist für beide Verbindungen identisch.) Die Standardlösungen werden aus umkristallisiertem Lithiumhydroxypyruvat[2] bzw. Glykolaldehyd unmittelbar vor Gebrauch hergestellt. Bei Gegenwart größerer Mengen freier Kohlenhydrate kann die

beschriebene Methode nicht angewendet werden. — Zur Bestimmung von Glykolaldehyd und Hydroxypyruvat in einer Lösung wird erst die Summe beider Verbindungen bestimmt und nach Adsorption des Hydroxypyruvats an Bio-Deminrolit G (The Permutit Co. Ltd.) der Gehalt an Glykolaldehyd ermittelt. Zur Adsorption des Hydroxypyruvats versetzt man einen aliquoten Teil (5 ml) der sauren Probelösung (mit je 0,5—10 μMol der beiden Verbindungen) mit 2 g Bio-Deminrolit G, schüttelt, bis die Lösung $p_H \sim 4$ anzeigt, und filtriert. Die Farbreaktion mit Naphthoresorcin wird dann in der beschriebenen Weise durchgeführt. Für den Glykolaldehyd muß ein Korrekturfaktor (1,25) angewendet werden, da nach der Abtrennung des Hydroxypyruvats im Durchschnitt nur 80% der eingesetzten Aldehydmenge wiedergefunden werden. — Bei Gegenwart störender Substanzen muß die *Bestimmung von Hydroxypyruvat durch enzymatische Oxydation von Diphosphopyridinnucleotid (DPNH)* durchgeführt werden. Als Enzym wird aus Petersilienblättern gewonnene Hydroxypyruvat-Reduktase[3] verwendet. — *Arbeitsweise.* Die Probe wird, falls erforderlich, mit Trichloressigsäure oder Perchlorsäure enteiweißt und anschließend vorsichtig mit verd. Lauge neutralisiert. Ein aliquoter Teil (1 ml) der erhaltenen Testlösung mit etwa 0,05—0,4 μMol Hydroxypyruvat wird in einer 1 cm-Quarzküvette mit 1 ml 0,1 m Phosphatpufferlösung (p_H 7,2) und 0,1 ml DPNH-Lösung versetzt (die 0,5%ige DPNH-Lösung wird mit verd. Natronlauge auf p_H 8 eingestellt und bei —15° C aufbewahrt) und mit dest. Wasser auf 3 ml verdünnt. Man gibt 0,02 ml Reduktaselösung (siehe unten) zu und kontrolliert alle Minuten die Abnahme der Extinktion bei 340 mμ, bis die Reaktion beendet ist und somit die Extinktion nahezu konstant bleibt (nach 7—10 min). Vergleichslösung ist Wasser (3 ml), das mit 0,02 ml Reduktaselösung versetzt worden ist. Ein Blindversuch wird entsprechend durchgeführt. Nach folgender Gleichung wird ausgewertet: $A \cdot 0{,}478 = \mu$Mol Hydroxypyruvat (A = gesamte Extinktionsabnahme unter Berücksichtigung des Blindwertes). Die Genauigkeit der enzymatischen Methode ist mit ± 5% angegeben. — *Reduktaselösung.* Der ausgepreßte Saft von gewaschenen und feingehackten Petersilienblättern (40 ml/100 g), die über Nacht bei —15° C eingefroren waren, wird zentrifugiert. 30 ml der klaren Flüssigkeit werden mit 45 ml gesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt. Der erhaltene Niederschlag (man läßt das Gemisch einige Stunden bei 0° C stehen) wird gesammelt und in 12 ml 0,01 m Phosphatpufferlösung (p_H 7,4) gelöst. Bei —15° C aufbewahrt behält die Reduktaselösung für einige Monate ihre Aktivität.

[1] Biochemic. J. 68, 84—88 (1958). Courtauld Inst. Biochem., Middlesex Hosp. Med. School, London (England). — [2] Dickens, F., u. D. H. Williamson: Biochemic. J. 68, 74 (1958). — [3] Stafford, H. A., A. Magaldi u. B. Vennesland: J. biol. Chemistry 207, 621 (1954). K. Machner

Zur Bestimmung von 5-substituierten 3-Phenyl-2-thiohydantoinen (PTH) auf Papierchromatogrammen beschreiben K. R. Hanson und D. R. Whitaker[1] in Ergänzung zu der Anwendung von Reagentien nach Feigl sowie Grote die Benutzung von Kaliumpermanganat und Schwefelsäure. Das getrocknete Chromatogramm wird 30 sec in eine Lösung aus 0,1 n Kaliumpermanganat und 0,2 n Schwefelsäure getaucht. Anschließend wird das Papier sofort in fließendem Wasser gewaschen, bis die Permanganatfarbe verschwunden ist. Die PTH erscheinen als braune Flecken von Mangandioxyd. Durchlässigkeitsmessungen an entwickelten Chromatogrammen zeigen, daß äquimolekulare Mengen der PTH von Monoaminosäuren etwa die gleichen Mengen Mangandioxyd liefern. Bei dem PTH des Lysins entsteht doppelt soviel. Die Empfindlichkeit des Nachweises wird durch die kleinste, noch nachweisbare Menge an Isoleucin-PTH gemessen, nachdem dieses

40 cm in dem Lösungsmittelsystem a nach SJÖQUIST[2] gewandert ist. Es ergibt sich ein Betrag von 0,01 μMolen auf gewaschenem und von 0,02 μMolen auf ungewaschenem Whatman-Papier Nr. 1.

[1] Chem. and Ind. **1958**, 43. Nat. Res. Lab., Ottawa (Canada). — [2] SJÖQUIST, J.: Acta chem. scand. (Kopenhagen) **7**, 447 (1953); vgl. diese Z. **143**, 40 (1954).
D. JENTZSCH

Die Eignung von Färbemitteln zur quantitativen Proteinbestimmung in der Papierelektrophorese untersuchen V. BONAVITA und V. SCARDI[1,2]. Die erste Mitteilung[1] betrifft die Anwendung von *Lichtgrün*. An Humanalbumin und an γ-Globulin-Lösungen wird ansteigend auf Whatman-Papier Nr. 1 mit n-Butanol-Eisessig-Wasser-Gemisch (5:1:4) entwickelt. (Die genaue Versuchsvorschrift ist früher gegeben worden[3].) Gefärbt wird 40 min mit wäßriger Lösung (0,5 g-%ige Lichtgrün, Geigy), die 10% Trichloressigsäure enthält, dann wird 3mal je 30 min durch Einlegen in 10%ige Trichloressigsäurelösung gewaschen, anschließend bei Raumtemperatur getrocknet. Zur Lichtgrünbestimmung wird dann mit 0,1 n Natronlauge 30 min eluiert. Das farblose Eluat wird durch Zusatz von 3 ml Eisessig je 100 ml grün, erreicht die höchste Farbintensität nach 20—25 min und wird zu fixierter Zeit (30 min, 4 Std) bei 630 mμ photometriert. Die Farbstoffaufnahme erweist sich für beide Proteine als der Konzentration proportional. Wird die Farbstoffaufnahme gegen die Quadratmillimeter der Fleckengröße ausgewertet, so wird bei einer Konzentration von 2 g Protein in 100 ml jedoch bereits ein Sättigungswert erreicht. Der Vorteil der großen Farbstoffaufnahme wird durch den niedrigen Extinktionskoeffizienten weitgehend eliminiert. Obwohl Pherogramme ohne Untergrundfärbung erhalten werden, zeigt Lichtgrün für die quantitative Analyse keine Vorteile gegenüber den bisher verwendeten Farbstoffen.

In der 2. Mitteilung werden von V. SCARDI und V. BONAVITA[2] entsprechende Versuche mit *Nigrosin* beschrieben. Das trockene Chromatogramm (15 min bei 105° C) wird 10 min in die 1%ige Nigrosinlösung in 1%iger Essigsäurelösung gelegt, so lange mit 1%iger Essigsäurelösung gewaschen, bis der Untergrund nur noch schwach blau ist, und bei Raumtemperatur getrocknet. Eluiert wird 20 bis 25 min mit 0,01 n Natronlauge, photometriert bei 500 mμ. Die Farbstoffaufnahme ist der Proteinkonzentration nicht linear proportional, die Farbstoffaufnahme je Quadratmillimeter Fleckengröße erreicht bereits bei 1%igen Proteinlösungen einen Sättigungswert. Auch hier läßt sich die überraschend große Farbstoffaufnahme zur quantitativen Analyse daher kaum ausnutzen.

[1] BONAVITA, V., u. V. SCARDI: J. Chromatogr. (Amsterdam) **1**, 285—287 (1958). Univ. Neapel (Italien). — [2] SCARDI, V., u. V. BONAVITA: J. Chromatogr. (Amsterdam) **1**, 287—289 (1958). — [3] SCARDI, V., A. ORENGO u. E. ROMANO: Rass. Med. sperim. **2**, 161 (1955); Boll. Soc. ital. biol. sperim. **31**, 1327 (1955). K. CRUSE

Zur Bestimmung von Glykogen in der Leber haben C. E. SEARLE und D. L. WOODHOUSE[1] die von A. KEMP und A. J. M. KITS VAN HEIJNINGEN[2] angegebene colorimetrische Methode, die auf der Farbreaktion mit konz. Schwefelsäure beruht, eingehend überprüft. Dabei konnte festgestellt werden, daß in manchen Fällen (z. B. bei der Analyse pathologischer Leberproben) die erhaltenen Farblösungen veränderte Absorptionsspektren zeigen, obwohl visuell kein Farbunterschied zu beobachten ist. Dadurch werden besonders bei niedrigem Glykogengehalt fehlerhafte Ergebnisse erhalten.

[1] Biochemic. J. **69**, 18p—19p (1958). Cancer Res. Labs., Med. School, Birmingham (England). — [2] Biochemic. J. **56**, 646 (1954); vgl. diese Z. **146**, 154 (1955).
K. MACHNER

Aromatische Nitroverbindungen lassen sich in Urin nach W. B. Koniecki und A. L. Linch[1] mittels Formamidinsulfinsäure (Thioharnstoffdioxyd) in alkalischem Medium in primäre aromatische Amine überführen. Durch Diazotierung der aromatischen Amine und Bindung an Chicagosäure (1-Amino-8-naphthol-3,4-disulfonsäure) werden Azofarbstoffe erhalten, deren Lichtabsorption ausgemessen werden kann. Für folgende Stoffe werden die besten Bedingungen zu ihrer Bestimmung ausgearbeitet: *Nitrobenzol, Nitrotoluole, Chlornitrobenzole, Chlornitrotoluole, Nitrodiphenyle, Nitroanisole, Nitronaphthalin, Nitrophenetol, Dinitrobenzol, Dinitrotoluol, und Nitroacetanilide.* Die Herstellung der Reagentien, die genaue Arbeits- und Berechnungsweise sind angegeben. Die Ausbeuten und störenden Einflüsse werden erwähnt. Ganz besonders wird peinlichste Sauberkeit der Glasgefäße empfohlen.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1134—1137 (1958). E. I. du Pont de Nemours & Co., Inc., Penns Grove, N. J. (USA). B. Rossmann

Zur Bestimmung flüchtiger Phenole in Urin benutzt S. L. Tompsett[1] das Destillat von 5 ml Urin, 1 ml konz. Salzsäure und 4 ml Wasser. Es werden 4 mal 5 ml Destillat aufgefangen. Nach je 5 ml Destillat werden wieder 5 ml Wasser in den Destillationskolben gegeben. — *Durchführung. Zur colorimetrischen Bestimmung von p-Kresol* werden zu 2 ml Destillat 0,5 ml 0,3%iger 1-Nitroso-2-naphthollösung in Aceton zugegeben und 5 min im Wasserbad bei 60° C erwärmt. Dann setzt man 4 Tr. konz. Salpetersäure zu und erwärmt eine weitere Minute. Zur Stabilisierung werden 6 ml einer Lösung zugefügt, die aus 200 ml 6%iger Kochsalzlösung, 250 ml Aceton, aufgefüllt mit Wasser zu 1 l hergestellt wird, zu der aber vor Gebrauch auf 100 ml 1 ml 1 m Eisen(III)-chloridlösung zugesetzt werden muß. Nach Mischung schüttelt man mit 10 ml Äthylacetat und mißt die rote Farbe gegen einen Blindversuch bei 500 mμ. Vergleichslösungen mit 5, 10 und 20 μg p-Kresol werden ebenso behandelt. — *Zur Bestimmung der Phenole* werden 5 ml Destillat mit 2 ml 4 n Ammoniaklösung, 1 ml 1,5%iger 4-Aminoantipyrinhydrochloridlösung und 1 ml 4%iger Kaliumhexacyanoferrat(III)-lösung versetzt. Nach $^1/_2$ Std mißt man die orange Färbung bei 510 mμ gegen einen Blindversuch. Vergleichslösungen mit Phenol werden ebenso untersucht. Bei dieser Bestimmung werden o- und m-Kresol mit erfaßt. Der Gesamtgehalt an flüchtigen Phenolen ergibt sich durch Addition beider Werte oder durch Bestimmung mit Folin-Ciocalteu-Reagens.

[1] Clin. Chemistry **4**, 237—240 (1958). North. General Hosp., Edinburgh (Schottland). B. Rossmann

Zur Mikrobestimmung von Cholesterin bei Verwendung von 0,04 ml Blutserum modifizieren L. S. Galloway, P. W. Nielson, E. B. Wilcox und E. M. Lantz[1] die Makromethode von W. M. Sperry und M. Webb[2]. — *Arbeitsweise.* 40 μl Serum von frischem Blut werden in Gläser von 1 ml Inhalt pipettiert und bis zur Bestimmung eingefroren. Dann führt man vorsichtig unter Schütteln direkt in das wieder aufgetaute Serum 0,4 ml der Mischung von Aceton mit absol. Äthanol (1:1)[2] ein und stellt kurz in ein kochendes Wasserbad. Nach dem Abkühlen durch kaltes Wasser wird mit Aceton-Äthanol zu 1 ml aufgefüllt und 20 min bei 2500 U/min zentrifugiert. Aus der überstehenden Lösung (*A*) lassen sich die Proben direkt für die Bestimmungen entnehmen. *Freies Cholesterin.* 0,2 ml Lösung *A* kommen in ein 1 ml-Röhrchen, werden mit 5 μl 10%iger Essigsäure und 100 μl Digitoninlösung (500 mg Digitonin in 100 ml 50%igem Äthanol)[2] versetzt, gut geschüttelt und mit einem Gummistopfen verschlossen. Einen Reagentienleerwert (0,2 ml Aceton-Äthanol) behandelt man auf gleiche Weise. Die Proben läßt man über Nacht stehen, zentrifugiert, saugt die überstehende Lösung vorsichtig ab, wäscht den Rückstand mit 200 μl Aceton-Äther und trocknet ihn durch

Eintauchen der Röhrchen in heißes Wasser. Es empfiehlt sich, für je 10—15 Gläser einen Standardwert von 5 μg Cholesterin mitlaufen zu lassen. Man fügt nun 50 μl Eisessig zu und löst in der Wärme den gesamten Rückstand. Nach Zugabe von 100 μl Essigsäureanhydrid—Schwefelsäurereagens (1 ml konz. Schwefelsäure, 20 ml Essigsäureanhydrid)[2] (konstante Temperatur 28° C) entwickelt sich die Farbe, die nach genau 30 min bei 625 mμ gemessen wird. Der Gehalt des Serums an freiem Cholesterin berechnet sich nun: $(E_u - E_0) \cdot St \cdot 100/E_{St} \cdot V_u$ = Milligramme Cholesterin/100 ml Serum. (E_u = Extinktion der unbekannten Probe, E_0 = Extinktion des Reagentienleerwertes, E_{St} = Extinktion der Standardprobe, St = Milligramme Cholesterin im Standardwert, V_u = aufgearbeitete Serummenge in Millilitern.) — *Gesamtcholesterin.* 0,1 ml von *A* pipettiert man in 1 ml-Röhrchen und gibt 5 μl 33%ige Kalilauge zu. Nach gründlichem Schütteln läßt man bei 37—40° C 30 min stehen. Dann wird bei Raumtemperatur mit Aceton-Äthanol auf etwa 200 μl gebracht und mit 10%iger Essigsäure (etwa 30 ml) gegen Phenolphthalein neutralisiert. Nachdem man nun noch 100 μl der Digitoninlösung zugegeben hat, verfährt man wie bei der Bestimmung des freien Cholesterins. — Die Mikromethode ist mit der Makromethode[2] verglichen worden und hat bei menschlichem Serum fast die gleichen, bei Rattenserum für freies und Gesamtcholesterin etwas höhere Werte ergeben.

[1] Clin. Chemistry **3**, 226—232 (1957). Agric. Exp. Stations, Logan, Utah, a. State College, N. M. (USA). — [2] J. biol. Chemistry **187**, 97 (1950). H. Pelzer

Eine Mikrobestimmungsmethode von Cholesterin und Cholesterinestern im Serum von Fingerspitzenblut wird von H. L. Rosenthal und L. Jud[1] beschrieben. Sie stellt eine Modifikation des Verfahrens von H. L. Rosenthal, M. L. Pfluke und S. Buscaglia[2] dar und beruht auf einer gleichzeitigen Bestimmung von Gesamtcholesterin (GC) und Cholesterinestern (CE); Differenz GC—CE = freies Cholesterin (FC). Damit wird die zeitraubende Hydrolyse umgangen. Zusatzversuche sowohl mit FC als auch mit Cholesterinacetat haben ergeben, daß die Methode sehr genaue Ergebnisse liefert. — *Arbeitsweise.* 0,05 ml Serum gibt man zu 2 ml Aceton-Äthanol (1:1), mischt und bringt die Lösung in einem Wasserbad kurz zum Kochen. Nach dem Abkühlen auf 20° C füllt man mit Aceton-Äthanol zu 2,5 ml auf. Nun verschließt man das Gläschen, schüttelt und zentrifugiert. Der überstehenden Lösung werden 2,0 ml entnommen und mit 1 ml Digitoninlösung versetzt (0,5 g Digitonin + 53 ml 95%iges Äthanol + 1 ml 10%ige Essigsäure; mit Wasser zu 100 ml auffüllen, mischen bis zur Lösung, welche jeweils vor Gebrauch filtriert werden muß). Man mischt durch, entnimmt zur Bestimmung des GC sofort 1 ml dieser Lösung 1 und dampft in einem 50 ml-Erlenmeyer-Kölbchen zur Trockne (Wasserbad). Der Rest der Lösung wird verschlossen und 4 bis 24 Std stehengelassen. Das gebildete Digitonid läßt sich leicht abzentrifugieren. Mit 1 ml der überstehenden Lösung 2 verfährt man wie mit Lösung 1. Die Eindampfrückstände werden in je 2,5 ml Eisessig gelöst und mit 2 ml Eisenreagens[2] versetzt. Durch vorsichtiges Umschwenken lassen sich die beiden Phasen mischen. Nach 30 min (Raumtemperatur) mißt man die Extinktionen bei 560 mμ. Die ursprüngliche Konzentration an GC und FC berechnen sich nach

$$C \times Eu \times 2500/Es = \text{mg}/100 \text{ ml Serum}$$

C = Cholesterin-Standard (0,1 mg/Glas); Eu = Extinktion der unbekannten Probe, Es = Extinktion des Standards. — Die mit der beschriebenen Mikromethode erhaltenen Normalwerte für menschliches Serum liegen für GC bei 135—402 mg-%/o und somit etwas höher als bei der Makromethode (120—368 mg-%/o), die Normalwerte für CE bei 67,7%/o von GC (Makromethode 68,9%/o).

[1] J. Lab. clin. Med. **51**, 143—146 (1958). Dep. Pathol., General Hosp., Rochester, N. Y. (USA). — [2] J. Lab. clin. Med. **50**, 318 (1957). H. Pelzer

Die Papierchromatographie mit umgekehrten Phasen und eine Methode zur Anfärbung von Steroiden aus der Cholesteringruppe, wie sie von R. P. MARTIN[1] empfohlen werden, ermöglichen eine starke Vorreinigung und Vortrennung dieser und einiger anderer Steroide aus *Gewebeextrakten*. Bei der beschriebenen Chromatographie können relativ große Mengen der betreffenden Äther- oder Äthylacetatextrakte aufgetragen und in 3 Gruppen aufgetrennt werden: Die nichtwandernden „Fette" (R_f 0,0—0,14), die Gruppe des Cholesterins (I) und seiner Derivate (R_f 0,3 bis 0,65) und die Gruppe der Steroidhormone (R_f 0,75—0,87). I-Ester bleiben bei den Fetten, 7-Ketocholesterin, 4-Cholesten-6β-ol-3-on und 4-Cholesten-3β-ol-6-on finden sich in der Gruppe der Steroidhormone wieder. Zur Lokalisation auf dem Papier dient UV-Licht bzw. Phosphormolybdänsäure (8%ig in Alkohol) oder Phosphorwolframsäure (15%ig in Alkohol). 34 Steroide sowie Morphin, Codeinhydrochlorid, Isooctanol, n-Amylalkohol, Allylalkohol, Methallylalkohol werden auf ihre Anfärbbarkeit mit diesen Reagentien untersucht; bei der Phosphorwolframsäure wird eine größere Spezifität festgestellt. Einzelheiten darüber siehe das sehr ausführliche Original. — *Arbeitsweise.* Als stationäre Phase dient „Base Oil C" (odorless kerosene) der Standard Oil Co., als mobile Phase 60%iges wäßriges n-Propanol. Whatman-Papier Nr. 2 wird in 12%ige Base Oil C-Lösung in Petroläther getaucht, dann läßt man kurz abtropfen, tupft leicht ab und trägt den Extrakt oder die Lösung des reinen Steroids am Startpunkt auf. Nach einer Sättigung von 10—12 Std im Chromatographiekasten wird mit 60%igem wäßrigem n-Propanol, das mit der stationären Phase gesättigt ist, chromatographiert. Nach 10—15 Std wird herausgenommen und getrocknet. Im UV-Licht oder nach Anfärbung mit den genannten Reagentien werden die einzelnen Zonen sichtbar gemacht. Die so vorgereinigten Steroide lassen sich nach Elution in der Regel ohne Schwierigkeiten in einem der bekannten Lösungsmittelsysteme weiter auftrennen. — Der Vorteil des Verfahrens liegt darin, daß man bis zu 25 mg Extraktrückstand auf dem Papier vortrennen kann. Durch Zusatz von radioaktiven Steroiden zu den Extrakten ist gezeigt worden, daß die Trennung in die 3 Fraktionen quantitativ ist.

[1] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **25**, 408—416 (1957). College Med., Univ. Salt Lake City, Utah (USA). H. PELZER

Über eine elektrophoretische und chromatographische Trennung von butanollöslichen Harn-17-Ketosteroidkonjugaten berichten G. CAVINA und L. TENTORI[1]. — *Extraktion.* 200 ml Harn werden mit 2,5 n Natronlauge auf p_H 10 gebracht und nach Zusatz von 10 g NaCl mit 2×100 ml n-Butanol 30 min lang extrahiert. Die vereinigten Butanolextrakte werden mit 100 ml 0,04 n Natronlauge (15 min) und 2mal mit 100 ml Wasser (5 min) gewaschen. Dann wird im Vakuum bei 60° C Badtemperatur zur Trockne eingedampft. Die methanolische Lösung des Rückstandes kann direkt zur Chromatographie oder Elektrophorese aufgetragen werden. — Die *Elektrophorese* wird in einer Apparatur nach GRASSMANN und HANNIG durchgeführt (Phosphatpuffer p_H 7,4, 0,1 m; Whatman-Papier Nr. 1; 200 Volt; 5 bis 6 Std; 0,5 Milliamp.). Bei Anfärbung mit Zimmermann-Reagens auf 17-Ketosteroide werden 2 getrennte Zonen sichtbar, von denen die eine die Sulfate (10 bis 11 cm), die andere die Glucuronide (8—9 cm in Richtung zur Anode) darstellt. Eine gelborange Zone (3,5—4,5 cm vom Start) färbt sich auch mit Tetrazoliumblau an und besteht nach Ansicht der Verff. aus 20 Ketosteroidderivaten. — Die *Papierchromatographie* wird mit Whatman-Papier Nr. 1 in Isoamylalkohol-konz. Ammoniak-Wasser (55:27:18) ausgeführt und bringt eine Gruppentrennung in 4 zimmermannpositive Fraktionen: R_f 0,12 (gelborange), R_f 0,48 (violett, Glucuronide), R_f 0,82 (violett, Sulfate), R_f 0,92 (dunkelviolett, Androsteronsulfat. — Die *Identifizierung* der bei der Elektrophorese und Chromatographie erhaltenen 17-Ketosteroidfraktionen erfolgt durch Vergleich der Spektren der Zimmermann-

Chromogene mit dem von reinem Dehydroisoandrosteron (DHA). Synthetisches DHA- und Androsteronsulfat verhalten sich in der Elektrophorese und Chromatographie wie die Sulfatfraktion des Harnextraktes. Durch Elution der Zonen und quantitative Bestimmung mit Zimmermann-Reagens wird das Mengenverhältnis von Sulfaten und Glucuroniden ermittelt. Verff. schlagen vor, damit das ursprüngliche Verhältnis 17 KS-sulfate/17 KS-glucuronide im Harn zu bestimmen und bringen einige Anwendungsbeispiele. Zusatzversuche bei der Butanolextraktion ergeben jedoch nur 80—90% Ausbeuten bei synthetischen 17 KS-sulfaten. Glucuronide sind nicht geprüft worden.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **3**, 160—164 (1958). Inst. Health, Rom (Italien). H. Pelzer

Die Isolierung von Δ^4-Pregnen-11β, 17α, 20α, 21-tetrol-3-on aus menschlichem Harn gelang R. E. Peterson, Ch. E. Pierce und B. Kliman[1]. — *Arbeitsweise.* 3 gesunde Personen erhielten zusammen 5 g Hydrocortison (I) (4 mal am Tag je 50 mg) und sammelten insgesamt 15 l Harn. Dieser wurde nach Ch. E. Pierce und R. E. Peterson[2] kontinuierlich mit Dichlormethan (DCM) extrahiert. Nach dem Waschen des Extraktes mit 0,1 Vol. 5%iger wäßriger Natriumcarbonatlösung und 0,1 Vol. 0,1 m Essigsäure dampfte man im Vakuum zur Trockne, löste den Rückstand in Äthanol und verdünnte mit Wasser auf eine Alkoholkonzentration von 20 Vol-%. Mit 0,5 Vol. Benzol konnten hieraus einige Lipide ausgeschüttelt werden. Dann wurden die Steroide wieder mit 20 Vol. DCM extrahiert und der Extrakt im Vakuum zur Trockne gebracht. Nun löste man in Methanol und chromatographierte absteigend 20 Std auf Whatman -Papier mit Benzol-Methanol-Wasser (4 : 2 : 1). Von den UV-absorbierenden Zonen wurde diejenige ausgeschnitten, deren R_f-Wert dem von reinem Δ^4-Pregnen-11β, 17α, 20α, 21-tetrol-3-on (II) entsprach. Das mit Methanol aus dem Papier eluierte Steroid wurde im gleichen System ein 2. Mal 96 Std chromatographiert. II wanderte 12 cm, das 20β-Epimere 14 cm. Das Eluat des 12 cm gelaufenen Steroids chromatographierte man nun noch in Benzol-n-Butanol-Methanol-Wasser (10 : 1 : 3 : 3) (30 cm/8 Std). Die dem II entsprechende Zone ergab nach dem Acetylieren ein Diacetat, das sich im System Cyclohexan-Benzol-Methanol-Wasser (4 : 4 : 2 : 1) wie authentisches II-Diacetat verhielt (30 cm/12 Std). Es konnte nach der Elution aus Methanol-Wasser 3 mal umkristallisiert werden mit einer Ausbeute von 10 mg. Es hatte nach 24stündigem Trocknen bei 68° C im Vakuum einen Fp 203,5—205° C, Misch-Fp mit II-Diacetat war 204—205,5° C. Die Elementaranalyse ergab befriedigende Werte für C und H. Auch bei zahlreichen weiteren Prüfungen verhielt sich das isolierte Steroid genau wie II. Mit Hilfe der Isotopenverdünnungsmethode[3] wurden nach peroraler Gabe von 200 mg I im 24 Std-Harn 1,68 mg II und 0,45 mg des 20β-Epimeren gefunden.

[1] Arch. Biochem. Biophysics **70**, 614—617 (1957). Nat. Inst. Health, Bethesda, Md. (USA). — [2] Analyt. Chemistry **28**, 2029 (1956); vgl. diese Z. **158**, 121 (1957). — [3] Burstein, S., u. R. I. Dorfman: J. biol. Chemistry **213**, 581 (1955). H. Pelzer

Über die quantitative Bestimmung des Gehalts an Antikörpern durch Ausfällung auf Papier berichten A. E. Gurvič und R. B. Kapner[1]. Auf Streifen von chromatographischem Filtrierpapier wird mit automatischer Mikropipette (10—75 μl) eine Reihe Immunserumflecke aufgetragen; nach dem Austrocknen werden auf dieselben Fleckstellen Antigenlösungen in steigender Konzentration (10 Verdünnungen 25—1600 μg Protein/ml, auf jeden nächsten Fleck $1^1/_2$—2 mal mehr Antigen) aufgetragen. Ohne zu trocknen bringt man die Streifen in eine Kammer für absteigende Chromatographie und taucht die Streifenenden in Veronalpufferlösung (p_H 9,2). Nach 15—18 Std ist das Präcipitat ausgewaschen; man trocknet und bestimmt das Protein dann entweder durch Messen der vom Protein gebundenen Farbe oder nach Lowry u. Mitarb.[2]. Bei dem ersten Verfahren werden

die getrockneten Chromatogramme in eine Farblösung (90% Methylalkohol + 10% Essigsäure + 0,02% Säureblauschwarz) auf 20 min eingetaucht, wonach man die überschüssige Farbe 4—5mal mit einer wäßrigen Lösung von 10%iger Essigsäure und 5%igem Phenol auswäscht und das Papier trocknet. Die gefärbten Stellen (unspezifisch gebundene Proteine des Immunserums und Antigens) werden ausgeschnitten und mit 0,1 n NaOH-Lösung eluiert, wonach man die Farbintensität bei 595 mμ mißt. Nach LOWRY werden die ausgeschnittenen Stellen 2 Std mit 1 ml 1 n NaOH-Lösung eluiert, danach setzt man 1 ml 1 n Salzsäure und 4 ml Reagens hinzu (49 Teile 2%iger Na_2CO_3-Lösung in 0,1 n Natronlauge und 1 Teil einer Lösung von Natriumtartrat $Na_2C_4H_4O_6$, in 0,5%iger $CuSO_4 \cdot 5H_2O$-Lösung), mischt, versetzt nach 10 min mit 0,2 ml doppelt verdünntem Folin-Reagens und mißt photoelektrisch mit Rotfilter. Den Gehalt ermittelt man aus der Eichkurve nach Abzug des Blindprobenwertes aus der Proteinmenge, die im größten Präcipitat enthalten ist. — Die Ergebnisse des vorgeschlagenen Verfahrens der Antikörperbestimmung werden nach einem etwas modifizierten *immunochemischen Verfahren* wie folgt nachgeprüft. In eine Reihe von Zentrifugenröhrchen werden je 0,1—0,3 ml Lösungen mit ansteigenden (25—2400 μg/ml) Antigenmengen eingebracht und die gleiche Menge Immunserum zugegeben, umgerührt, danach 20 min bei 37° C im Thermostat gehalten, alsdann auf 1 Tag in den Kühlschrank gestellt. Am nächsten Tage zentrifugiert man (10 min bei 1500—2000 Umdrehungen/min), wäscht den Niederschlag 2mal mit physiologischer Lösung, 2mal mit dest. Wasser, jedesmal je 5 min zentrifugierend. Danach löst man den Niederschlag in 0,1 ml 1 n Natronlauge und bestimmt das Protein nach LOWRY, indem man (abweichend von oben) 6 ml einer Lösung von 49 Teilen 2%iger Na_2CO_3-Lösung in dest. Wasser und 1 Teil Natriumtartratlösung in 0,5%iger $CuSO_4 \cdot 5H_2O$-Lösung zusetzt. Man colorimetriert, wobei als Vergleichslösung Immunserum mit physiologischer Lösung dient. Die Berechnung erfolgt auf gleiche Art wie oben. — Die Ergebnisse beider Messungsreihen deckten sich. Die Empfindlichkeit beträgt 5—10 μg Protein, das entspricht (bei einer 35 μl-Pipette) 0,14—0,28 mg Antikörper im Milliliter Serum. Die Ergebnisse sind bei sorgfältigem Arbeiten gut reproduzierbar; der mittlere Fehler aus 6 Parallelbestimmungen beträgt 155,8 ± 3,5 μg.

[1] Laborat. Delo **4**, H. 2, 23—26 (1958) [Russisch]. Inst. für biolog. u. medizin. Chem., Akad. mediz. Wiss. (UdSSR). — [2] LOWRY, O. H., N. J. ROSENBROUGH, A. FARR und R. J. RANDALL: J. biol. Chemistry **193**, 265 (1951). A. v. WILPERT

Über den Nachweis und die Bestimmung einiger Enzyme des Kohlenhydratstoffwechsels in Grünalgen berichtet G. RICHTER[1]. Die Untersuchungen werden mit den Methoden von BÜCHER u. Mitarb.[2] und von LOWRY u. Mitarb.[3] (vom Verf.[4] so modifiziert, daß Chlorophyll nicht stört) an *Hydrodictyon reticulatum (L.)* durchgeführt. Es gelangen partikelfrei Zentrifugatüberstände zur Bestimmung. Das beste Aufschlußverfahren ist Zerreiben in flüssiger Luft. In Enzymeinheiten je Milligramm Protein lassen sich nachweisen: *92—110 Triose-Isomerase*; *10—15 Diphosphofructose-Aldolase*; *4—5 TPN*-spezifische *Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase*, deren Empfindlichkeit gegen PO_4^{3-} bestätigt wird; wider Erwarten *1—2 Milchsäure-Dehydrogenase*. — Die in höheren Pflanzen vorkommende Alkohol-Dehydrogenase ließ sich weder mit *DPN*- noch mit *TPN*-Zusatz nachweisen. Der Nachweis einer TPN-spezifischen Triosephosphat-Dehydrogenase war nicht möglich.

[1] Z. Naturforsch. **12b**, 662—663 (1957). Univ. Marburg/Lahn. — [2] BEISSENHERZ, G., H. J. BOLTZE, T. BÜCHER, R. CZOK, K. H. GARBADE, E. MEYER-ARENDT u. G. PFLEIDERER: Z. Naturforsch. **8b**, 555 (1953). — [3] LOWRY, O. H., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR u. R. J. RANDALL: J. biol. Chemistry **193**, 265 (1951). — [4] RICHTER, G.: Diss. Marburg/L. 1956. E. MÜLLER, Würzburg

Eine Methode zur colorimetrischen Bestimmung der Glutaminsäure-Oxalessigsäure-Transaminaseaktivität teilen F. L. Humoller, J. M. Holthaus und J. R. Walsh[1] mit. Es ist eine Modifikation der Methode von P. Cabaud, R. Leeper und F. Wroblewski[2]. Die Verbesserung besteht darin, daß durch Ausschütteln mit Toluol und Hydrogencarbonatlösung das nicht umgesetzte 2,4-Dinitrophenylhydrazin vollständig und das α-Ketoglutarathydrazon, das neben Pyruvathydrazon entsteht, weitgehend beseitigt werden und somit nicht stören. Denn es wird die durch Katalyse mit Anilincitrat aus Oxalessigsäure entstandene Brenztraubensäure als Hydrazon bestimmt. — *Ausführung.* In ein Reagensglas gibt man 0,5 ml Serum und 0,5 ml Pufferlösung (2,66 g Asparaginsäure + 0,2 g α-Ketoglutarat + 2,0 g KH_2PO_4 in Wasser lösen, auf p_H 7,4 einstellen und auf 100 ml auffüllen). In ein zweites Glas, das als Kontrolle läuft, gibt man dasselbe und sofort 2 Tr. Trichloressigsäure (100 g in Wasser lösen und auf 100 ml auffüllen) und 1 Tr. Anilincitratlösung (5 g Citronensäure in 5,0 ml Wasser werden mit 5,0 ml Anilin versetzt; die Lösung muß wegen Polymerisationsgefahr immer frisch angesetzt werden). Analog setzt man eine Serie mit 0,5 ml der Brenztraubensäurestandardlösungen (siehe unten) an. Die Ansätze bleiben genau 20 min bei 24—26° C stehen, und dann unterbricht man die Reaktion mit 2 Tr. Trichloressigsäure und setzt 1 Tr. Anilincitratlösung hinzu. Nach Mischen läßt man 20 min bei 24—26° C stehen, fügt 0,5 ml Hydrazinreagens hinzu (200 mg 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 20 ml konz. Salzsäure lösen, mit Wasser auf 100 ml auffüllen), mischt gut und läßt 3—5 min stehen. Man schüttelt kräftig mit 2 ml Toluol aus (100 ml sehr reines Toluol werden mit 20 ml Wasser ausgeschüttelt und die Wasserphase verworfen), gibt nach klarer Trennung 1,0 ml der Toluolschicht in ein Reagensglas mit 5,0 ml 5%iger Natriumhydrogencarbonatlösung und schüttelt gründlich. 4,0 ml der wäßrigen Phase versetzt man mit 1,0 ml 10%iger Natronlauge, mischt und mißt die Extinktion oder prozentuale Durchlässigkeit bei 440 mμ. Mit Hilfe einer Standardkurve (siehe unten) ermittelt man μg Brenztraubensäure oder spektrophotometrische Einheiten der Transaminaseaktivität. Es bestehen auch zu anderen Methoden folgende Beziehungen: spektrophotometrische Einheiten = chromatographische Einheiten/0,029 = Brenztraubensäureeinheiten × 1,2. — *Brenztraubensäurestandardlösung.* 100 mg Brenztraubensäure oder 126 mg sehr reines Natriumpyruvat löst man in einer 2%igen Kaliummonophosphatpufferlösung vom p_H-Wert 7,4 und füllt auf 200 ml auf. Zum Gebrauch bringt man 0,5, 1,0, 2,0 und 3,0 ml mit Phosphatpuffer auf 10 ml. Diese Verdünnungen enthalten dann in 1,0 ml 25, 50, 100 und 150 μg Brenztraubensäure. Mit ihnen stellt man nach der oben beschriebenen Methode eine Eichkurve her, indem man die Extinktion gegen die Konzentration aufträgt.

[1] Clin. Chemistry **3**, 703—710 (1957). Veterans Admin. Hosp., Omaha, Nebr. (USA). — [2] Amer. J. clin. Pathol. **26**, 1101 (1956). E. Müller, Würzburg

---

Berichtigung

In der Arbeit von M. Ziegler und W. Rittner[1] über *die Trennung des Kobalts von Nickel mit Anionenaustauschern und die photometrische Bestimmung des Kobalts als Cyanatkomplex* sind die Abbildungen auf Seite 198 vertauscht. Die Zeichnung der Abb. 2 gehört also zur Unterschrift der Abb. 1 und umgekehrt.

[1] Diese Z. **165**, 197 (1959).